



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

UVEÍTE RECORRENTE EQUINA E LEPTOSPIROSE: ESTUDO DE VARIÁVEIS EM
CAVALOS SUJEITOS A VITRECTOMIA, NA REGIÃO DE HANNOVER

TERESA MOTA CORDOVIL

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Esmeralda Sofia da Costa Delgado
Doutor Fernando António da Costa Ferreira
Doutora Paula Alexandra Botelho de Andrade
Pimenta Tilley

ORIENTADOR

Doutor Fernando António da Costa Ferreira

CO-ORIENTADOR

Dr. Klaus Hopster

2013

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

UVEÍTE RECORRENTE EQUINA E LEPTOSPIROSE: ESTUDO DE VARIÁVEIS EM
CAVALOS SUJEITOS A VITRECTOMIA, NA REGIÃO DE HANNOVER

TERESA MOTA CORDOVIL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Esmeralda Sofia da Costa Delgado

Doutor Fernando António da Costa Ferreira

Doutora Paula Alexandra Botelho de Andrade

Pimenta Tilley

ORIENTADOR

Doutor Fernando António da Costa Ferreira

CO-ORIENTADOR

Dr. Klaus Hopster

2013

LISBOA

Agradecimentos

A elaboração desta dissertação não teria sido possível sem um grande conjunto de pessoas que me apoiaram e ajudaram durante todo o processo. A todos eles os meus mais profundos e sinceros agradecimentos.

Ao meu orientador, o professor Fernando Ferreira por toda a disponibilidade que demonstrou, mesmo apesar dos contratempos e de todas as dificuldades, foi sempre uma ajuda presente que soube orientar todo o trabalho com toda a paciência e compreensão.

Ao meu co-orientador, o Dr. Klaus Hopster, que para além de me ter recebido com toda a boa vontade e de estar sempre disponível para auxiliar a integração no serviço do hospital, foi uma ajuda imprescindível na recolha de dados para esta dissertação.

A toda a equipa da Klinik für Pferde da Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, e em especial ao Professor Bernhard Ohnesorge, à Dra. Jessika Cavalleri, à Dra. Charlotte Hopster-Iversen, ao Dr. Philipp Conze, ao Dr. Florian Roggel, ao Dr. Joachim Kaminsky e à Dra. Anna Bonetto, por todos os conhecimentos transmitidos, pela paciência para explicar tudo em inglês e para me ensinarem um pouco de alemão. Obrigada pela boa vontade e pela solicitude.

Um obrigado ao Prof. Baumer e aos serviços da Universidade de Hannover pelas orientações e pela boa vontade na resolução dos problemas.

Ao Dr. Pedro Cruz e Silva pela ajuda inestimável na tradução da terminologia anglo-saxónica para o português.

Um obrigado especial também aos alunos Erasmus, que tanto ajudaram a adaptação a Hannover e às rotinas do estágio, por todo o espírito de equipa e entreaajuda. À Raquel, Rita, Patrícia, Zdravko, Aurelia, Diana e Ksenia. Sem vocês a experiência em Hannover não teria sido tão positiva. Um obrigado também aos estudantes alemães pelo auxílio e paciência demonstrados mesmo quando isso significava dificuldades acrescidas. À Janina, Nadine, Lisa, Katharina, Janine, entre muitos outros alunos, “dankeschön”. Ao Charlie pela ajuda com o inglês, pelo *input* científico e o encorajamento. Tenho uma dívida impagável em chávenas de chá.

À minha família, por terem não só possibilitado esta aventura, mas também por todo o apoio. Aos meus pais, porque sempre acreditaram sempre em mim. À minha irmã Carolina pela encorajamento e amizade mesmo nos momentos mais difíceis. Ao meu irmão Estêvão, que mesmo longe, demonstra sempre toda a disponibilidade e preocupação. Sem vocês eu não teria chegado aqui.

À Dídia e à Patrícia, pela amizade ao longo destes anos, por todas as aventuras, e por estarem sempre lá, mesmo nos momentos difíceis. Mesmo quando éramos as únicas pessoas nas aulas e quando já eram horas de jantar e ainda estávamos na faculdade a trabalhar, porque nunca pararam de me encorajar e apoiar.

À Diana pela amizade de sempre. À Daniela, à Ângela e a Leonor, e a todo o 4º Esquadrão da GNR da Ajuda pelos sábados de manhã com os cavalos, pelo espírito de camaradagem e companheirismo.

A todos os professores que souberam transmitir para além de todos os conhecimentos, a sede do saber e da curiosidade científica que alimentou o entusiasmo pela aprendizagem, sem os quais não teria chegado aqui.

A todos os médicos veterinários e demais profissionais com quem estagiei ou pus em prática os meus conhecimentos, e pela compreensão e paciência com que sempre me receberam e que transmitiram os conhecimentos. Nem sempre é fácil mas nem por isso desistiram. Obrigado por tudo o que me proporcionaram.

A todos os autores que contactei e que tão solícitamente forneceram os estudos sem os quais a revisão bibliográfica seria impossível.

A todas as demais pessoas que são parte da minha vida, à minha família alargada pelo apoio, e todos os que fizeram parte deste percurso e me ajudaram ao longo dele, sem vocês não seria eu nem estaria aqui. Um obrigado do fundo do coração.

Resumo

Uveíte Recorrente Equina e Leptospirose: Estudo de variáveis em cavalos sujeitos a vitrectomia, na região de Hannover

A uveíte recorrente equina (URE) é frequentemente citada como a causa mais comum de cegueira em cavalos, apresentando prevalências entre 8 a 10% na Europa e entre 2% a 25% nos Estados Unidos. É caracterizada por episódios recorrentes de inflamação intraocular, separados por períodos de remissão, nos quais não há sinais de inflamação intraocular ativa. Evidências recentes correlacionam-na com uma forte resposta autoimune, despoletada após infecção por *Leptospira*. Embora a terapêutica médica anti-inflamatória seja eficaz no controle da maioria dos casos de uveíte recorrente equina, alguns casos requerem abordagem cirúrgica, por exemplo, vitrectomia.

Neste estudo foram revistos os dados referentes às vitrectomias realizadas entre Janeiro de 2012 e Janeiro de 2013, na Clínica de Equinos da Faculdade de Medicina Veterinária de Hannover. Durante a vitrectomia foram recolhidas amostras de vítreo, que foram analisadas por reação da polimerase em cadeia (PCR) e teste de aglutinação microscópica (TAM). O PCR foi positivo para 46,7% dos cavalos testados enquanto 53,3% dos cavalos apresentavam anticorpos anti-*Leptospira*. No total dos dois testes, 56,7% dos cavalos mostraram reação positiva para *Leptospira*. Foram detetados anticorpos contra o serovar Grippotyphosa em 81,3% dos cavalos positivos ao TAM. Foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa entre a idade dos animais positivos para *Leptospira* e a idade dos animais negativos. A análise das lesões oculares existentes confirmou uma correlação positiva entre a gravidade das lesões e a positividade para *Leptospira*. Este estudo suporta a hipótese da relação entre a URE e a infecção por *Leptospira* no equino. Os resultados obtidos estão de acordo com os trabalhos que sugerem que a seropositividade para *Leptospira* está correlacionada com uma maior probabilidade do desenvolvimento de cegueira.

À medida que prosseguem os estudos na procura de terapêuticas eficazes, para melhor compreensão da patogénese e dos fatores de risco da URE, a necessidade de investigação desta doença no nosso país é cada vez mais premente.

Palavras-chave: uveíte recorrente equina, leptospira, vitrectomia, diagnóstico, tratamento, prognóstico

Abstract

Equine Recurrent Uveitis and Leptospirosis: a study of variables in horses that underwent vitrectomy in the region of Hannover

Equine recurrent uveitis is often cited as the most common cause of blindness in horses, with prevalence of 8 to 10% in Europe and 2% to 25% in the United States. It is characterized by recurrent bouts of intraocular inflammation separated by periods of remission, in which there are no signs of active inflammation. Recent research shows it has positive correlation with strong autoimmune response, triggered by infection with *Leptospira*. Although anti-inflammatory medical therapy is effective in controlling most cases of equine recurrent uveitis, some cases require surgical approach, such as vitrectomy.

This study reviewed the data of the horses that underwent vitrectomy between January 2012 and January 2013 in the Equine Clinic of the Faculty of Veterinary Medicine of Hannover. Vitreous samples collected during vitrectomy were analyzed by Polymerase Chain Reaction (PCR) and microscopic agglutination test (MAT). The PCR was positive in 46.7% of the horses, whereas 53.3% of the horses presented antibodies anti-*Leptospira*. Altogether, 56.7% of the horses showed positive reaction for *Leptospira*. Antibodies for serovar Grippotyphosa were detected in 81.3% of horses positive for MAT. There was a significant difference between the age of the animals positive for *Leptospira* and the age of the negative animals. The analysis of the ocular lesions confirmed an association between the severity of the lesions and positivity for *Leptospira*. This study supports the hypothesis of the link between URE and *Leptospira* infection in horses. The results are also in agreement with studies suggesting that *Leptospira* seropositive is correlated with a higher probability of developing blindness.

As studies proceed in the search for effective therapies for a better understanding of the pathogenesis and the risk factors of ERU, research into this disease in our country is increasingly needed.

Keywords: equine recurrent uveitis, leptospira, vitrectomy, diagnosis, treatment, prognosis

Índice

I. Atividades desenvolvidas durante o estágio	1
II. Revisão Bibliográfica	3
1. A visão no Cavalo	3
2. Anatomia do olho no Cavalo	3
3. Leptospirose	9
3.1 Introdução e Retrospectiva Histórica	9
3.2 Etiologia	9
3.3 Epidemiologia	13
3.4 Patogenia	18
3.5 Quadro clínico	23
3.6 Diagnóstico Laboratorial	23
3.7 Quadros Lesionais	28
3.8 Tratamento	29
3.9 Prevenção e Controlo	30
3.10 Importância Atual - Perspetiva económica e de saúde pública	30
4. Uveíte Recorrente Equina	31
4.1 Anatomia Clínica e Patofisiologia da Uveíte Recorrente Equina	33
4.2 Impacto da Uveíte Recorrente Equina	35
4.3 Classificação da Uveíte Equina	36
4.4 Aparência Clínica da Uveíte Recorrente Equina	37
4.5 URE Crónica em estadio terminal	41
4.6 Características Imunológicas da URE	41
4.7 Patologia da URE	48
4.8 Diagnóstico Diferencial e Métodos de Diagnóstico	50
4.9 Prognóstico dos animais com URE	53
4.10 Controlo da URE	54
4.11 Terapêutica Médica para a URE	56
4.12 Tratamento cirúrgico de URE	58
III. Estudo	66
1. Objetivos	66
2. Materiais e Métodos	66
2.1 Amostra	66
2.2 Análise Estatística	68
3. Resultados	68
3.1 Positividade para <i>Leptospira</i>	68
3.2 Complicações intra e pós-cirúrgicas e período de internamento	69
3.3 Correlação entre positividade para <i>Leptospira</i> e idade dos animais	69

3.4 Associação entre positividade para <i>Leptospira</i> e unilateralidade da doença	70
3.5 Associação entre positividade para <i>Leptospira</i> e o tipo de raça	70
3.6 Associação entre positividade para <i>Leptospira</i> e o género dos animais.....	70
3.7 Sequelas pré-cirúrgicas	70
3.7 Análise económica.....	71
4. Discussão dos resultados.....	71
4.1 Positividade para <i>Leptospira</i>	71
4.2 Correlação entre positividade para <i>Leptospira</i> e idade dos animais.....	71
4.3 Associação entre positividade para <i>Leptospira</i> e unilateralidade da doença	72
4.4 Associação entre positividade para <i>Leptospira</i> e o tipo de raça	72
4.5 Sequelas pré-cirúrgicas	72
4.6 Complicações intra e pós-cirúrgicas e período de internamento	73
4.7 Análise económica.....	73
4.8 Limitações do Estudo.....	74
5. Conclusões	74
IV Bibliografia.....	76
V Anexos	82
Anexo 1 – Tabela de classificação das alterações oculares	82

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Serogrupos e serovares mais representativos de <i>L. interrogans</i>	12
Tabela 2 - Algumas espécies genómicas de <i>Leptospira</i> e distribuição de serogrupos.	13
Tabela 3 - Alguns serovares de <i>Leptospira</i> identificados em cavalos e em outros hospedeiros.	13
Tabela 4 - Classificação clínica da uveíte equina.....	36
Tabela 5 - Classificação das lesões em função da estrutura afectada e do score.....	71

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Distribuição dos casos acompanhados por especialidade.	1
Gráfico 2 - Serovares detectados no TAM	68
Gráfico 3 - Positividade para <i>Leptospira</i>	69
Gráfico 4 - Classificação dos scores e positividade para <i>Leptospira</i>	70

Índice de Figuras

Figura 1 - Anatomia do Olho Equino	4
Figura 2 - Diagrama esquemático da coróide	5
Figura 3 - Diagrama esquemático da íris e do corpo ciliar	6
Figura 4 - Morfologia da <i>Leptospira</i> : as terminações em gancho.	9
Figura 5 - Morfologia da <i>Leptospira</i> : o invólucro externo e os flagelos periplásmicos..	9
Figura 6 - Uveíte aguda, com hiperémia conjuntival, edema da íris, miose intensa e depósitos de fibrina na câmara anterior.	38
Figura 7 - Uveíte crónica com edema da córnea, sinéquias posteriores, atrofia dos <i>corpora nigrans</i> , hiperpigmentação da íris e cataractas densas.....	38
Figura 8 - Uveíte posterior: opacidades vítreas densas com descoloração amarela.	39
Figura 9 - Uveíte crónica: cataracta madura, hiperpigmentação da íris, degeneração dos <i>corpora nigra</i> e pigmento da face anterior da cápsula da lente.	40
Figura 10 - Lesões coriorretinianas - lesões “butterfly”	40
Figura 11 – Lesões coriorretinianas - lesões “bullet hole”	40
Figura 12 - Degeneração do vítreo e infiltrado celular no vítreo	40
Figura 13 - Suturas de fixação da porta de irrigação e da sonda de vitrectomia	62
Figura 14 - Porta de irrigação com a platina fixada à esclerótica.	62
Figura 15 – A sonda de irrigação e a sonda de vitrectomia em posição, durante a aspiração de vítreo.....	63

Lista de Abreviaturas

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AINES – Anti-Inflamatórios Não-Esteroides

cRALBP – *Cellular retinaldehyde binding protein*, Proteína celular de ligação de retinaldeído

CsA – Ciclosporina A

ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

IFN- γ – Interferão γ

Ig – Imunoglobulina

IL-17 – Interleucina 17

IL-2 – Interleucina 2

IRBP – *Interphotoreceptor Retinoid-Binding Protein*, Proteína interfotoreceptora ligante ao retinóide

MHC – *Major Histocompatibility Complex*, Complexo Maior de Histocompatibilidade

PCR – *Polymerase Chain Reaction*, Reação da Polimerase em cadeia

PEDF – *Pigment Epithelium-Derived Factor*, Factor derivado do Epitélio Pigmentar

PFGE – *Pulsed field gel electrophoresis*, Eletroforese em Gel de Campo Pulsado

PIO – Pressão intra-ocular

SNC – Sistema Nervoso Central

TAF – Teste de anticorpos imunofluorescentes

TAM – Teste de Aglutinação Microscópica

URE – Uveíte Recorrente Equina

VEGF – *Vascular Endothelial Growth Factor*, Factor de crescimento do endotélio vascular

VPP – Vitrectomia via Pars Plana

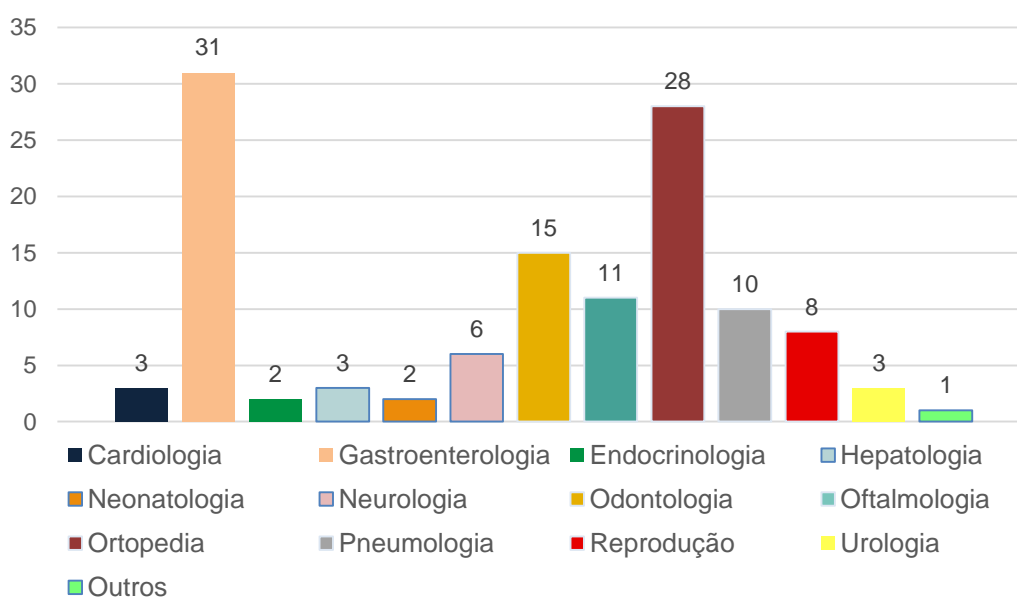
I. Atividades desenvolvidas durante o estágio

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária foi realizado na área de clínica de equinos ao abrigo do programa ERASMUS, no Hospital de Equinos da Faculdade de Medicina Veterinária de Hannover, a Tierärztliche Hochschule. Este estágio teve início a 15 de Setembro de 2012 e terminou a 15 de Janeiro de 2013 (4 meses).

O Hospital de Equinos da Faculdade de Medicina Veterinária de Hannover funciona em regime permanente e está dividido em 5 áreas de atuação: Medicina Interna, Cirurgia, Ortopedia, Reprodução e Anestesiologia. O edifício principal tem 50 boxes para o internamento de equinos, 3 salas de cirurgia com as respetivas boxes de indução anestésica, 6 salas de consulta, divididas por especialidade: uma para odontologia, uma para oftalmologia, duas para ortopedia e cirurgia e duas para medicina interna. Possui ainda uma sala de Raios X, uma sala de TAC e uma sala de Ressonância Magnética que partilha com o Hospital de Pequenos Animais. O hospital tem ainda ferradores próprios e instalações de ferração.

Os alunos são integrados nas diferentes especialidades durante uma ou duas semanas, com rotação por todas as especialidades. Uma vez que o estágio abarcou 17 semanas, considerou-se dividir as rotações em períodos de 4 semanas por área de especialidade. Contudo, uma vez que o volume e dispersão de trabalho nas diferentes áreas esteve sujeito a grandes variações, o meu estágio incluiu 2 semanas na área de anestesiologia/reprodução, 4 semanas em cirurgia, 4 semanas em ortopedia e 7 semanas em medicina interna, tendo sido nesta área onde se desenvolveu a dissertação de mestrado. Durante o estágio acompanhei diversos casos clínicos e a atividade de diversos médicos veterinários, quer na realização de consultas quer no acompanhamento de procedimentos clínicos e cirúrgicos variados. A divisão dos casos acompanhados por especialidade está descrita no gráfico 1.

Gráfico 1- Distribuição dos casos acompanhados por especialidade.



Na rotação de oftalmologia acompanhei sete casos de uveíte recorrente equina, duas enucleações por cegueira, um trauma por corpo estranho e uma queratotomia realizada devido a um tumor das células escamosas.

Uma vez que o Hospital funciona como unidade de referência, os animais com uveíte recorrente equina vinham para a realização de consultas da especialidade, procedimentos cirúrgicos e alguns exames complementares de diagnóstico, como ecografias oculares. Nesta especialidade acompanhei consultas, administrei medicações oculares, auxiliei na preparação pré e pós-cirúrgica dos animais e realizei alguns procedimentos do exame oftálmico. Também observei algumas cirurgias e participei numa como ajudante de anestesista. De realçar ainda que os animais eram distribuídos pelos alunos em cada especialidade, ficando responsáveis pelo exame de estado geral de cada animal e no caso da medicina interna, por relatar brevemente o caso durante as rondas ao final da tarde.

II. Revisão Bibliográfica

1. A visão no Cavalo

Contrariamente a outras espécies de herbívoros, os cavalos não possuem cornos ou hastes para se defenderem, pelo que desenvolveram a capacidade de detetar os predadores em campo aberto, monitorizando a sua envolvimento para evitar ataques. Embora a maioria dos cavalos domesticados não necessite da visão para assegurar a sua sobrevivência, esta continua a ser essencial para assegurar uma boa qualidade de vida (Hollingsworth, 2009).

No Cavalo, os globos oculares são proeminentes e colocam-se lateralmente, o que combinado com pupilas horizontalmente alongadas proporciona a capacidade de visão panorâmica de quase 360°, com visão monocular. Embora as vantagens evolutivas deste tipo de visão sejam óbvias, este amplo campo de visão tem duas zonas “cegas”: uma à frente da cabeça (em forma de cone com cerca de um metro de comprimento), e, uma segunda zona, atrás da cabeça que se estende sobre o dorso e a cauda. Adicionalmente a percepção de profundidade está limitada. Assim, para conseguir ter uma visão binocular completa, o Cavalo precisa de movimentar a cabeça (Hollingsworth, 2009; Dyce, Sack & Wensing, 2010).

Tal como noutras espécies, para se adaptar a diferentes condições de luminosidade, o Cavalo utiliza dois tipos de fotorreceptores: os cones e os bastonetes. Estes localizam-se na retina e estão otimizados para captarem frequências extremas do espectro de luz e de intensidade luminosa. Os bastonetes são utilizados em níveis reduzidos de luminosidade (escuridão quase completa até ao amanhecer/entardecer), sendo a razão de bastonetes/cones de cerca de 20:1 nos equinos, o que significa que estes animais mantêm uma capacidade visual apreciável mesmo em ambientes com pouca luz. Simultaneamente, o tapete lúcido reflete a luz na retina de forma eficiente, melhorando as condições de visão noturna. O tamanho apreciável do globo ocular nos equinos e uma pupila elíptica com capacidade de dilatação seis vezes superior à pupila humana facilitam a visão noturna, apesar da capacidade de adaptação a mudanças bruscas de luminosidade ser relativamente má. Por outro lado a acuidade visual ao movimento é elevada, uma vez que o elevado número de bastonetes é responsável por esta característica (Hollingsworth, 2009).

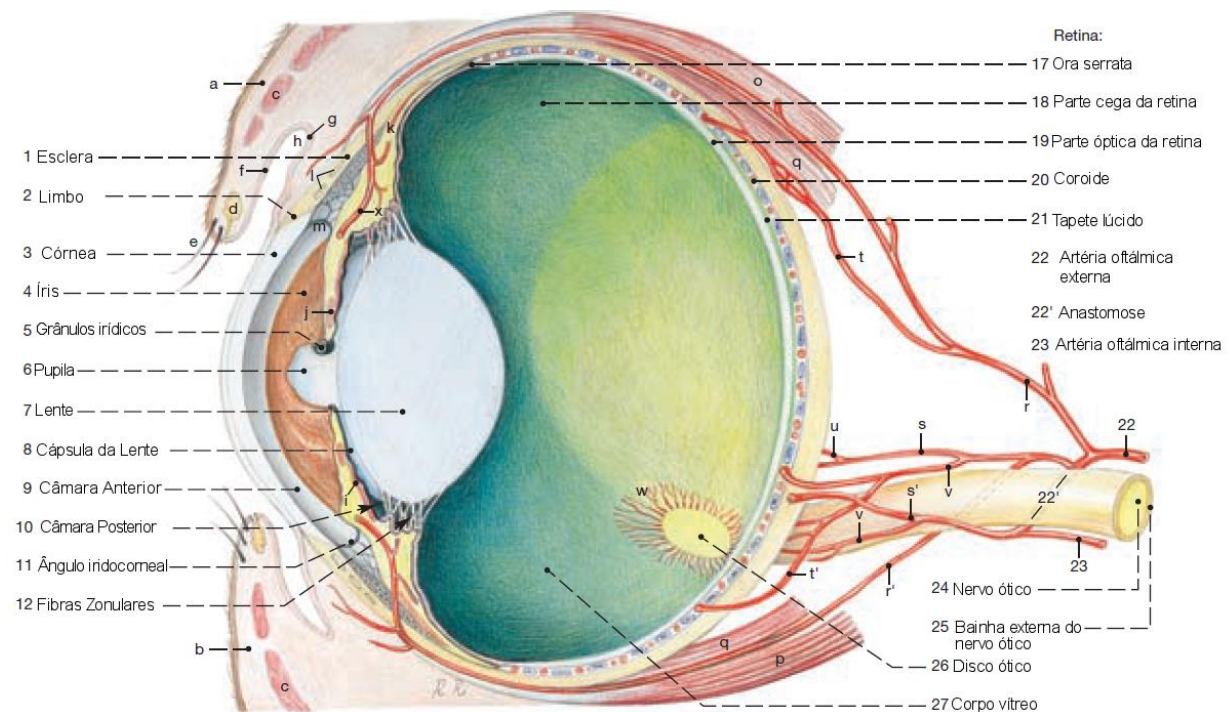
2. Anatomia do olho no Cavalo

O olho do Cavalo tem uma constituição semelhante à maioria dos mamíferos (Hollingsworth, 2009); é protegido por duas pálpebras e a pele circundante apresenta pelos tácteis. As pestanas, embora implantadas em ambas as margens palpebrais, são mais proeminentes na pálpebra superior e, à semelhança das glândulas tarsais, também se apresentam em maior número na pálpebra superior. A conjuntiva palpebral mostra-se abundantemente vascularizada, tendo menor expressão na parte bulbar apesar de fortemente pigmentada junto

à região corneo-escleral. A terceira pálpebra, uma cartilagem em forma de T coberta por conjuntiva, é facilmente visualizada e a carúncula lacrimal é proeminente (Hollingsworth, 2009; Dyce et al., 2010).

O globo ocular apresenta-se achatado no pólo anterior e posterior, mostrando maior altura que espessura (Figura 1). A pupila é elítica, com um eixo horizontal maior, assumindo uma forma circular quando contraída e no recém-nascido (Dyce et al., 2010). Os grânulos irídicos e as excrescências granulares (irregulares, escuras e proeminentes) estão presentes na margem superior e inferior da pupila, embora marcadamente mais pequenos nesta última. Os grânulos são cobertos na sua face posterior pela parte não visual e pigmentada da retina e vascularizados pelos vasos do estroma de íris. Pensa-se que a sua função seja limitar a entrada de luz (Budras, Sack, Rock, Horowitz & Berg, 2009; Dyce et al., 2010).

Figura 1 - Anatomia do Olho Equino (adaptado de Budras, Sack, Rock, Horowitz & Berg, 2009)



Legenda: **a)** Pálpebra Superior; **b)** Pálpebra Inferior; **c)** Músculo Orbicularis oculi; **d)** Glândulas tarsais; **e)** Cílios; **f)** Conjuntiva palpebral; **g)** Conjuntiva bulbar; **h)** Fórnix conjuntival; **i)** Dilatador da pupila; **j)** Esfíncter da pupila; **j)** Plexos venoso escleral; **k)** Músculo ciliar; **l)** Plexo venoso da esclera; **m)** Ligamento Pectíneo do ângulo iridocorneal; **n)** Raios da lente; **o)** Músculo recto dorsal; **p)** Músculo recto ventral; **q)** Retractor do globo; **r, r', s, s', t, t', u e v)** artérias ciliares anteriores e posteriores; **w)** Vasos da retina; **x)** Círculo arterial maior da íris; **y)** Veias vorticosas

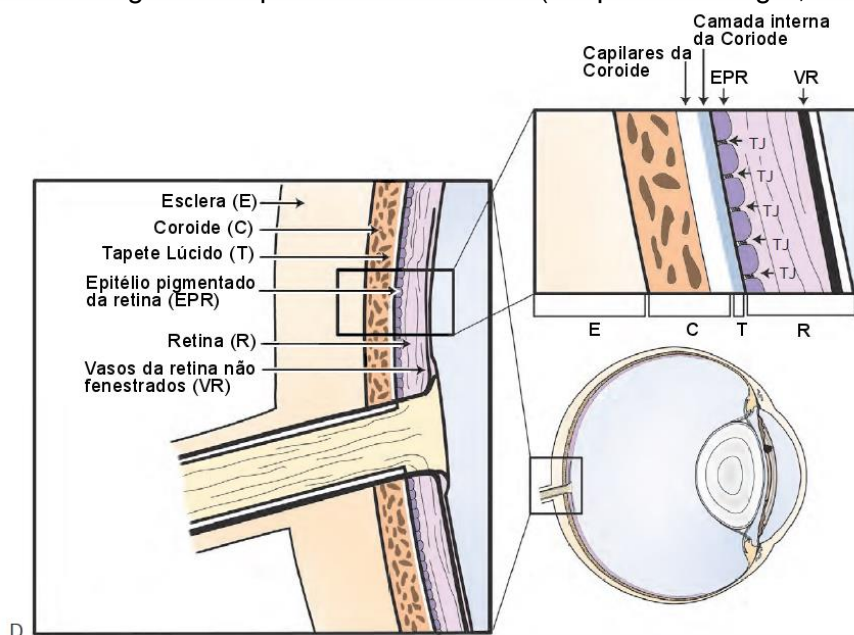
A túnica externa consiste numa esclera e na córnea, às quais se junta uma chanfradura designada de limbo (Budras et al., 2009). A esclera é composta por colagénio que lhe confere a dureza responsável pela manutenção da forma do globo ocular e da acuidade visual. A inflexibilidade e dureza desta estrutura asseguram que não quebre ou fragmente apesar de, em casos de trauma, poder ser perfurada ou cortada, permitindo que o conteúdo do globo ocular extravase (Budras et al., 2009). A córnea é oval e o seu vértice é lateral (Dyce et al., 2010) e, se saudável é transparente, permitindo a passagem da luz. Pode adquirir um tom

opaco se sofrer desidratação por falta de fluido lacrimal, ou caso a camada epitelial posterior seja danificada e deixe o humor aquoso permear as camadas superficiais (Budras et al., 2009).

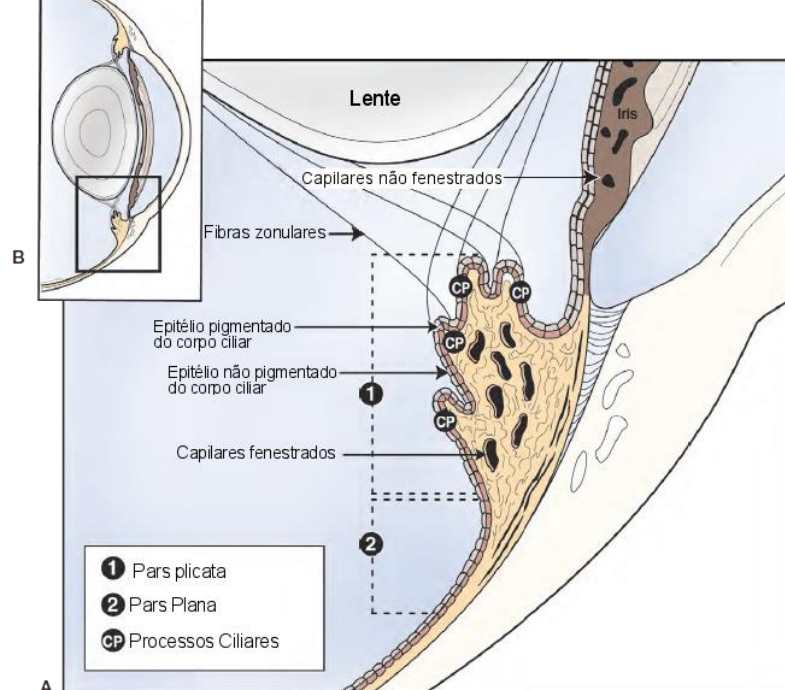
A córnea é nutrida na face anterior pelo fluido lacrimal e na parte posterior pelo humor aquoso (Hollingsworth, 2009). No *post-mortem* a córnea adquire um tom acinzentado tornando-se opaca (Budras et al., 2009).

A túnica média ou túnica vascular está firmemente unida à face interna da esclera e é composta por três zonas: coroide (úvea posterior), corpo ciliar e íris (úvea anterior). Os dois componentes da úvea anterior, a íris e o corpo ciliar, apresentam tecido conjuntivo fortemente pigmentado, tecido vascular e tecido muscular. A coroide cobre mais de metade do fundo do olho e mostra uma porção mais exterior com vasos de maior calibre e uma porção interna com capilares, funcionando como leito vascular primário da retina no Cavalo (Figura 2). Na parte dorsal do fundo do olho e com uma forma aproximadamente triangular, encontra-se o tapete lúcido: uma camada fibrosa compacta, regular e refletora, que causa o fracionamento da luz produzindo uma iridescência amarelada, esverdeada ou azulada (Budras et al., 2009; Gilger & Deeg, 2011).

Figura 2 - Diagrama esquemático da coroide (adaptado de Gilger, 2011).



O corpo ciliar, que constitui a continuação anterior da coroide, apresenta a forma de um anel com numerosas pregas, marcadamente mais estreito na zona medial (Figura 3). Esta estrutura tem uma coroa central com processos de maior dimensão que dão origem às fibras zonulares, cuja função é suspender a lente. O corpo ciliar produz o humor aquoso, por secreção ativa e ultrafiltração de plasma, e está unido à esclera pelo músculo ciliar que atua sobre o aparelho suspensor da lente para que ocorra focagem através do aumento da espessura e da concavidade da lente (Budras et al., 2009; Gilger & Deeg, 2011). O músculo ciliar mostra-se pouco desenvolvido no Cavalo (Dyce et al., 2010).



A túnica interna do globo ocular, conhecida por retina, reveste o seu interior desde a pupila até ao disco ótico, onde as fibras que o formam atravessam a esclera. A porção da retina aderente à superfície posterior da íris e do corpo ciliar e que se estende até à ora serrata, e denominada parte cega da retina, uma vez que não possui fotorreceptores e não é incidida pela luz direta. A restante porção é denominada parte ótica e estende-se entre a ora serrata e o disco ótico; apresentando nove camadas e células fotossensíveis (cones e bastonetes). A parte ótica acinzentada pode ser separada da camada mais externa da retina e, por ser fortemente pigmentada, é responsável pela cor castanho-escura do fundo do olho. Contudo, a porção da parte ótica que se sobrepõe ao tapete lúcido não apresenta pigmento, permitindo que a luz atinja essa estrutura e que ocorra iridescência quando a luz atinge a retina (Budras et al., 2009). O disco ótico localiza-se no quadrante temporo-ventral do fundo do olho, abaixo do tapete lúcido e ventrolateral ao pólo posterior do globo. É nesta região que os axónios atravessam a esclera, formando o nervo ótico que tem origem na porção ventral do pólo

posterior do globo ocular, em direção ao encéfalo. Os axónios não se mostram envolvidos por mielina antes de atravessarem a esclera e, por isso, são transluzentes. No disco ótico, os axónios passam a estar envolvidos por mielina, o que não deixa espaço à existência de recetores luminosos, sendo esta área reconhecida como uma parte cega. O nervo ótico ao abandonar o globo ocular é envolvido por duas meninges e pelos músculos retrobulbares. A dura-máter e a pia-máter fundem-se diretamente com a esclera estando separadas por um espaço intervaginal que corresponde ao espaço subaracnóideu. A porção embainhada do nervo é ligeiramente ondulada, de forma a permitir o movimento do globo ocular. Após passagem através do canal ótico os nervos óticos dos dois lados sobrepõem-se no quiasma ótico. Cerca de 80% dos axónios passam para o nervo do lado oposto nesta zona, sendo acompanhados pelos axónios que não se cruzam do lado ipsilateral, até ao diencéfalo (Budras et al., 2009; Dyce et al., 2010).

No interior do olho, a câmara anterior e a câmara posterior localizam-se anteriormente à lente. A cápsula que envolve e suspende a lente é mais espessa na zona do equador, onde as fibras zonulares estão fixas para manter a lente na sua posição (Budras et al., 2009). A lente tem como função refratar a luz de modo a que se forme uma imagem focada na retina, sendo nutrida pelo humor aquoso (Hollingsworth, 2009). É constituída por fibras em disposição regular cujas terminações estão cimentadas nas fibras vizinhas, sendo que nas superfícies anterior e posterior estas junções formam pequenas estrelas, os raios da lente, que são mais facilmente observadas em espécimenes frescos. A câmara anterior é relativamente grande e está localizada entre a córnea e a íris, comunicando com a câmara posterior através da pupila. A câmara posterior é mais pequena e consiste no espaço entre a íris, a lente e as estruturas que a suspendem. Ambas as câmaras estão preenchidas por humor aquoso, produzido pela túnica vascular, do corpo ciliar. O fluido é reabsorvido pelo ângulo iridocorneal e reentra em circulação através do plexo venoso intraesclera que se localiza perto do limbo. A produção e a reabsorção devem ser constantes para que a pressão intraocular seja mantida. O corpo vítreo, que preenche o espaço posterior à lente, é uma massa gelatinosa constituída sobretudo por água, com um estroma translúcido de pequenas fibras que se apresentam condensadas sob a forma de uma membrana à superfície. O conteúdo em água do corpo vítreo determina, em conjunto com o humor aquoso, a pressão intraocular (Budras et al., 2009).

A irrigação sanguínea do olho é feita através da artéria oftálmica externa e de sete artérias oftálmicas internas que estão interligadas por uma anastomose posicionada a cerca de 3 centímetros atrás do pólo posterior do globo ocular. A artéria oftálmica externa é um ramo da artéria maxilar e, em conjunto com outras anastomoses, dá origem aos ramos que irrigam os músculos do olho, assim como a glândula lacrimal e as pálpebras. As anastomoses dão ainda origem a várias artérias ciliares anteriores e posteriores, que se dirigem para a coroide, corpo ciliar e íris, assim como a pequenas artérias coroioretinais que atravessam a bainha externa do

nervo ótico e originam ramos ainda mais finos para a coróide e disco ótico (Budras et al., 2009).

A artéria central da retina é pouco desenvolvida e os poucos ramos que irradiam das margens do disco ótico mostram pequenos trajetos, sendo a retina nutrida maioritariamente pelos vasos da túnica média (Dyce et al., 2010). A drenagem venosa faz-se através das veias ciliar anterior, vorticosa e corioretinal que deixam o globo ocular no limbo, no equador e perto do pólo posterior (Budras et al., 2009).

Existe uma barreira física entre a circulação do sangue, e as estruturas internas do olho, conhecida por barreira hemato-ocular. A barreira hemato-ocular divide-se na barreira hemato-aquosa (*tight junctions* entre as células epiteliais não pigmentadas do corpo ciliar e os vasos sanguíneos iridais não fenestrados) e na barreira hemato-retiniana (*tight junctions* entre as células do epitélio pigmentar retinal e os vasos da retina). Normalmente estas barreiras semipermeáveis evitam que grandes moléculas e células entrem no olho, ajudando a que os fluidos intraoculares permaneçam transparentes. (Gilger & Deeg, 2011).

3. Leptospirose

3.1 Introdução e Retrospectiva Histórica

A leptospirose é uma doença de origem bacteriana, causada por espiroquetas do género *Leptospira*, família Leptospiraceae, ordem Spirochaetales, que afeta humanos e animais domésticos e silvestres. É considerada uma das zoonoses com maior distribuição a nível mundial e uma doença infecciosa emergente. Foi descrita em humanos pela primeira vez por Adolf Weil em 1886, e a sua etiologia foi revelada em 1915, no Japão e oito meses mais tarde na Alemanha. A importância dos roedores como fonte de infeção foi aceite em 1917 e alguns anos mais tarde, foi reconhecido o papel do cão e do gado doméstico na infeção humana (Levett, 2001). O primeiro relato da ocorrência de Leptospirose num cavalo foi efetuado na Rússia em 1947 (Lees & Gale, 1994) e a sua associação inicial com a URE foi relatada na Alemanha no mesmo ano, por Rimpau e Heusser. Foram publicados, em 1952, relatos de casos de um surto de leptospirose aguda em duas quintas em Nova York (Gilger & Deeg, 2011).

3.2 Etiologia

As leptospirosas são microrganismos helicoidais, flexíveis e móveis, com dois flagelos e que apresentam uma ou ambas as terminações em "gancho" (Figura 4). As suas dimensões estão compreendidas entre 0.1 µm por 6 µm e 0.1 µm por 20 µm, de largura e de comprimento, respetivamente. O recurso à microscopia eletrónica tornou possível distinguir três componentes estruturais principais: um invólucro externo, um cilindro protoplásmico e dois flagelos periplásmicos (Levett, 2001).

O invólucro externo é composto por várias camadas:

uma camada superficial, uma membrana externa com uma camada de peptidoglicano que confere rigidez, e uma membrana citoplasmática que envolve todo o citoplasma (Figura 5). O cilindro protoplásmico é o corpo cilíndrico enrolado helicoidalmente em torno do eixo formado pelos seus filamentos axiais. No seu interior estão vários componentes do citoplasma como, por exemplo, materiais nucleares, ribossomas e mesossomas. Os flagelos periplásmicos localizam-se no espaço periplásmico, entre a membrana externa e a

Figura 4 - Morfologia da *Leptospira*: as terminações em gancho. (adaptado de Rocha, 2004).

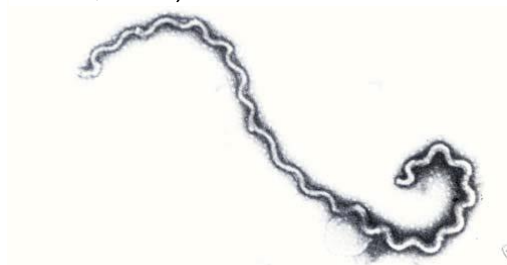
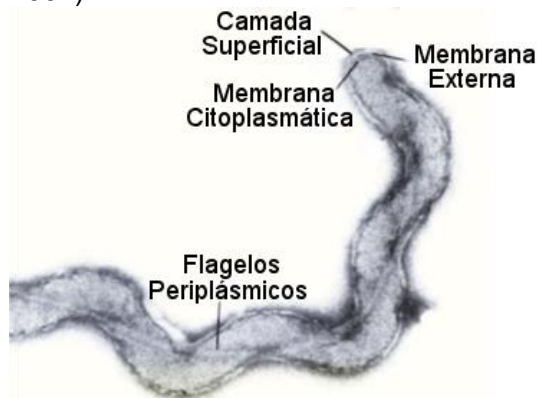


Figura 5 - Morfologia da *Leptospira*: o invólucro externo e os flagelos periplásmicos. (adaptado de Rocha, 2004).



camada de peptidoglicanos. Com inserções polares nas extremidades do cilindro protoplásmico, entrelaçam-no, estendendo-se até à região central da célula onde as suas terminações raramente se sobrepõem (Rocha, 2004).

Em termos morfológicos as diferentes espécies de leptospiros são indistinguíveis, apesar da morfologia dos isolados variar com a sua cultura *in vitro* e poder ser restaurada por após a infeção de hamsters (Levett, 2001).

As leptospiros são muito móveis e exibem duas formas distintas de movimento: translação e não-translação (Levett, 2001). A contração dos filamentos axiais ligados à superfície interna da membrana causa rotação em espiral e movimento, sendo possíveis três tipos: rotação em torno do eixo central, movimento progressivo em direção à extremidade menos encurvada e movimento circular (Rocha, 2004).

Estes microrganismos são aeróbios obrigatórios que partilham características metabólicas com bactérias Gram positivas e negativas. A sua temperatura ótima de crescimento situa-se entre os 28 e os 30°C, produzem catalase e oxidase e crescem em meio simples enriquecido com vitaminas, ácidos gordos de cadeia longa e sais de amónia. De salientar que os ácidos gordos de cadeia longa são utilizados como a única fonte de carbono através da β -oxidação. Por fim e como já foi referido a sua morfologia e motilidade dependem das condições de cultura e do serovar, não sendo facilmente coradas (Levett, 2001), o que levou a necessidade de aplicação de outras técnicas tais como a microscopia de fundo escuro ou contraste de fase, a impregnação por prata ou corantes imunológicos para a sua correta observação (Hines, 2007).

3.2.1 *Biologia Molecular*

As leptospiros relacionam-se filogeneticamente com outras espiroquetas, tendo o seu genoma sido sequenciado recentemente. Este mostra um tamanho cerca de 5.000 kbp e é constituído por dois fragmentos: um cromossoma maior com 4400 kbp e um menor com 350 kbp. Não foi descrita a presença de plasmídeos (Levett, 2001). O genoma das leptospiros é cerca de quatro vezes maior do que o de outras espiroquetas, como *Treponema* spp e *Borrelia* spp, justificando a capacidade de *Leptospira* spp viver em diversos ecossistemas, como por exemplo, em hospedeiros animais e livremente no ambiente (Rocha, 2004).

Pouco se sabe sobre os mecanismos de troca genética em *Leptospira*, apesar da transferência lateral ter sido sugerida. Estão a ser desenvolvidas ferramentas para a manipulação genética de leptospiros, nomeadamente para estudos de patogenia, fatores de virulência e estudos de biologia celular básica. Recentemente alguns genes de *Leptospira* têm vindo a ser clonados e analisados, incluindo genes de síntese de aminoácidos, rRNA, proteínas ribossomais, RNA polimerase, reparação do ADN, proteínas de *heat shock*, esfingomielinase, hemolisinas, proteínas do invólucro externo, proteínas flagelares e proteínas de síntese de lipopolissacarídeos. No serovar *Icterohaemorrhagiae*, o genoma parece mais conservado do que nos restantes, propriedade que permitiu a identificação de

um novo serovar através da análise de perfis de eletroforese em campo pulsado. No entanto, a recente demonstração de heterogeneidade dentro do mesmo serovar veio mostrar que são necessários mais estudos (Levett, 2001).

3.2.2 Classificação, Taxonomia e Nomenclatura do género *Leptospira*

Como já foi referido, as leptospiros pertencem ao género *Leptospira*, ordem Spirochaetales. A descoberta, em 1974, de uma estirpe antigenicamente não relacionada com as estirpes patogénicas e saprófitas de *Leptospira* e a sua posterior caracterização, levaram à proposta de classificação desta estirpe num novo género (*Leptonema*) que, em conjunto com o género *Leptospira*, formam a família Leptospiraceae. Esta taxonomia foi aceite pelo Comité Internacional de Bacteriologia Sistemática. Apesar deste género *Leptonema* partilhar algumas características com o género *Leptospira*, difere deste em algumas características serológicas, biológicas, génicas e morfológicas, nomeadamente ao possuir túbulos citoplasmáticos, semelhantes aos observados em *Treponemas*, razão pela qual o nome *Leptonema* foi escolhido. Atualmente, apenas algumas estirpes deste género foram descritas, com destaque para a estirpe isolada em Lisboa (Rocha, 2004).

A classificação clássica das leptospiros é baseada nas suas propriedades antigénicas, dividindo-se o género *Leptospira* em duas espécies: *L. interrogans* que inclui todas as estirpes patogénicas e *L. biflexa* que engloba todas as estirpes saprófitas isoladas no ambiente. *L. interrogans* distingue-se pela capacidade de crescimento a 13°C, necessidade de suplementação com azaguanina e incapacidade de formar células esféricas em solução de 1 M de NaCl (Levett, 2001).

De acordo com a classificação clássica, as duas espécies dividem-se em vários serovares, identificados pelo teste de aglutinação após absorção cruzada com o antigénio homólogo. Estão descritos mais de 60 serovares de *L. biflexa* e mais de 200 serovares de *L. interrogans*, organizados em 24 serogrupos (Tabela 1) (Levett, 2001).

Outros serovares já foram isolados mas não estão ainda classificados. Os serovares que se apresentam antigenicamente mais próximos foram incluídos, por conveniência, no mesmo serogrupo, o que apesar de não possuir qualquer suporte taxonómico, é útil para propósitos epidemiológicos (Levett, 2001).

A classificação fenotípica das leptospiros foi substituída pela classificação genotípica, na qual o número de espécies genómicas inclui todos os serovares de *L. interrogans* e *L. biflexa*. A heterogeneidade genética das leptospiros é conhecida há já algum tempo e a classificação genotípica do género *Leptospira* baseia-se atualmente em estudos de hibridização de ADN (Levett, 2001). Esta técnica deu origem a 19 espécies genómicas (13 patogénicas e 6 saprófitas) (Evangelista & Coburn, 2010) com, pelo menos, 70% de sequências de ADN homólogas e, no máximo, 5% de bases diferentes. Estudos de hibridização também confirmaram a classificação taxonómica do género *Leptonema* (Levett, 2001).

Tabela 1 - Serogrupos e serovares mais representativos de *L. interrogans* (adaptado de Levett, 2001).

Serogrupo	Serovares mais representativos
Australis	Australis, Bratislava, Iora
Autumnalis	Autumnalis, Fortbragg, Bim, Weerasinghe
Ballum	Ballum, Aroborea
Bataviae	Bataviae
Canicola	Canicola
Cynopteri	Cynopteri
Grippotyphosa	Grippotyphosa, Canalzonae
Hebdomadis	Hebdomadis, Jules, Kremastos
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Lai, Zimbabwe
Louisiana	Louisiana, Lanka
Mini	Mini, Georgia
Javanica	Javanica
Panama	Panama, Mangus
Pomona	Pomona
Pyrogenes	Pyrogenes
Sarmin	Sarmin
Sejroe	Sejroe, Saxkoebing, Hardjo
Shermani	Shermani
Tarassovi	Tarassovi

3.2.2.1 Considerações sobre os sistemas atuais de classificação

A classificação de leptospiros tem sido um tema polémico e, atualmente, mantém-se bastante complexo. As espécies genómicas de *Leptospira* não correspondem às duas espécies anteriormente referidas (*L. interrogans* e *L. biflexa*), serovares patogénicos e não patogénicos podem pertencer à mesma espécie, tendo já sido a heterogeneidade genética demonstrada para o mesmo serovar (tabela 2). De salientar que as espécies genómicas atualmente validadas e reconhecidas não podem ser diferenciadas pelas características fenotípicas utilizadas para a diferenciação de *L. interrogans* e *L. biflexa* (senso lato), sendo necessários mais estudos e revisões taxonómicas para a elucidação da taxonomia de *Leptospira* spp, de forma a que a nova a classificação seja taxonomicamente correta e forneça bases sólidas para futuras classificações. No entanto esta classificação genotípica é incompatível com o atual sistema taxonómico baseado nos serogrupos, que, durante décadas, ajudou clínicos e epidemiologistas no estabelecimento de um diagnóstico (tabela 3). Assim, até que os métodos de identificação mais simples, baseados no ADN, estejam disponíveis, será necessário manter a classificação serológica (Levett, 2001). A manutenção das designações *L. interrogans* e *L. biflexa* na classificação genómica causa alguma confusão; caso seja necessária a clarificação sobre qual das espécies está a ser referida, convencionou-se a utilização dos termos *sensu stricto* se o autor se refere a espécies genómicas ou, *sensu lato*, no caso das espécies serológicas (Rocha, 2004).

Em 2002, o Comité para a Taxonomia de *Leptospira* da União Internacional das Sociedades Microbiológicas aprovou a nomenclatura que se deverá seguir para os serovares de *Leptospira*; género e espécie devem ser escritos em itálico, mas o nome do serovar deverá ser escrito sem ser em itálico, sendo a primeira letra maiúscula. Por exemplo: *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae (Rocha, 2004).

Tabela 2 - Algumas espécies genómicas de *Leptospira* e distribuição de serogrupos (adaptado de Levett, 2001).

Espécie genómica	Serogrupos
L. alexanderi	Canicola, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Tarassovi
L. borpetersenii	Australis, Autumnalis, Ballum, Hebdomadis, Javanica, Pyrogenes, Sejroe, Tarassovi
L. inadai	Canicola, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Tarassovi
L. interrogans	Australis, Autumnalis, Canicola, Grippotyphosa, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Sejroe
L. kirschneri	Australis, Autumnalis, Canicola, Grippotyphosa, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Pomona
L. meyeri	Javanica, Sejroe,
L. noguchii	Australis, Autumnalis, Pomona, Tarassovi
L. santarosai	Autumnalis, Grippotyphosa, Hebdomadis, Javanica, Pomona, Sejroe, Tarassovi
L. weilii	Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Sejroe, Tarassovi

Tabela 3 - Alguns serovares de *Leptospira* identificados em cavalos e em outros hospedeiros (adaptado de Hines, 2007).

Espécie	Serovar	Hospedeiros reservatório	Animais domésticos hospedeiros	Humanos	Animais selváticos
L. interrogans sensu stricto	Bratislava	Rato, Porco, Vaca, Cavalo?	Cavalo, Vaca, Cão	+	+
	Pomona	Vaca, Porco, Doninha, Gambá	Cavalo	+	+
	Icterohaemorrhagiae	Rato	Cão, Vaca, Porco,	+	+
	Hardjo	Vaca, Ovelha	Cavalo	+	+
	Canicola	Cão	Cão, Porco, Ovelha	+	+
L. kirschneri	Grippotyphosa	Ratazana, Guaxinim, Doninha, Gambá	Cavalo, Cão, Gato, Porco, Ovelha, Cabra, Coelho, Gerbilo, Porquinho-da-Índia	+	+

3.3 Epidemiologia

A leptospirose é presumivelmente a zoonose com maior dispersão mundial. Infecta tanto humanos como animais por contacto direto e/ou indireto através materiais infetados. As fontes de infeção mais comuns são a urina infetada, água ou solo contaminado com urina infetada e tecidos de animais infetados (Levett, 2001).

A incidência da doença é significativamente mais alta em países com clima quente por este implicar um aumento do tempo de sobrevivência da *Leptospira* no ambiente. Adicionalmente, a maioria dos países tropicais estão em vias de desenvolvimento, pelo que mostram um número maior de oportunidades para que a infecção humana e animal ocorra. A leptospirose é uma doença sazonal com um pico de incidência no verão e no outono nas regiões temperadas, onde a temperatura é um importante fator limitante de sobrevivência destes microorganismos, enquanto nos climas quentes a dessecação pode limitar a sobrevivência, durante a estação seca. Nestes países, a incidência clínica de leptospirose reflete não só o número de doentes, mas também a disponibilidade dos métodos de diagnóstico laboratorial (Levett, 2001).

No ambiente a *Leptospira* é mantida devido à infecção crónica e /ou subclínica dos hospedeiros recém-infetados ou crónicos de manutenção (também designados hospedeiros reservatórios ou definitivos) a nível dos túbulos renais (Levett, 2001). Nesta categoria inclui-se um leque variado de animais selvagens e domésticos, responsáveis pela infecção dos hospedeiros acidentais. Estudos epidemiológicos vieram mostrar que serovares específicos de *Leptospira* estão associados a diferentes hospedeiros de manutenção, e que ocorre alguma seletividade consoante a região geográfica e a época de infecção. Nos hospedeiros de manutenção considera-se que ocorre uma adaptação a estes microrganismos, existindo uma infecção subclínica e endémica. Apesar deste tipo de hospedeiro ser muito suscetível à infecção, a patogenicidade é baixa e a doença é subclínica ou ligeira. Geralmente, a excreção de leptospiros na urina é prolongada, fazendo com que estes hospedeiros de manutenção sejam a fonte primária de contaminação ambiental e de transmissão para outras espécies (Hines, 2007). De salientar que os principais hospedeiros de manutenção dos serovares associados à uveíte recorrente equina (URE) são os veados, os bovinos, os suínos e os ratos (Gilger & Deeg, 2011).

Ao contrário dos hospedeiros de manutenção, os hospedeiros acidentais apresentam uma baixa frequência de infecção, e uma elevada probabilidade de desenvolverem doença aguda e grave quando se infetam. Normalmente, este tipo de hospedeiros excretam leptospiros por curtos períodos temporais, sendo pouco eficientes para assegurar a transmissão da doença. Para a maior parte dos serovares de *Leptospira*, os cavalos são considerados hospedeiros acidentais (Hines, 2007), apesar de alguns estudos apontarem os cavalos como hospedeiros de manutenção para *L. interrogans* serovar Bratislava (Ellis, O'Brien, Cassells, & Montgomery, 1983; Lees & Gale, 1994; Kitson-Piggot & Prescott, 1987; van den Ingh, Hartman, & Bercovich, 1989; Park, Gordon, Bech-Nielsen & Slemons, 1992).

A área do foco de infecção depende de muitos fatores incluindo: o clima, a densidade populacional e o grau de contato entre os hospedeiros de manutenção e os hospedeiros acidentais (Levett, 2001), sendo a urina contaminada a fonte de exposição primária. A excreção também ocorre através de fetos abortados, placentas, corrimentos uterinos e leite.

A infecção pode ser indireta através de solo contaminado, materiais de camas de animais ou água contaminada (Hines, 2007).

No meio ambiente, as leptospiros sobrevivem durante algumas semanas com condições favoráveis (ambiente quente e húmido) como, por exemplo, em águas estagnadas ou com pouco movimento. A sua sobrevivência é favorecida por um pH neutro ou ligeiramente alcalino, estando a sua viabilidade fortemente condicionada na urina ácida não diluída (Hines, 2007). Por este motivo, as espécies herbívoras são das mais importantes como fonte de infecção uma vez que o pH da sua urina é alcalino (Levett, 2001). Climas com temperaturas entre os 10 e os 25°C favorecem a sobrevivência destes microrganismos e temperaturas inferiores a 10°C ou superiores a 34°C condicionam a sua sobrevivência, uma vez que as leptospiros são suscetíveis ao congelamento e à dessecação. Existem evidências que sugerem que as leptospiros podem sobreviver em insetos e noutros hospedeiros invertebrados mas a importância desta realidade é desconhecida (Hines, 2007). Pensa-se que as infeções clínicas nos equídeos apresentem maior prevalência durante a primavera e o outono, sobretudo nos períodos de chuva, devido às razões acima referidas (Gilger & Deeg, 2011).

Embora o contacto com fluídos contaminados seja a forma de transmissão mais comum, a transmissão venérea e transplacentária também já foi descrita em algumas espécies. Foram observadas leptospiros no sémen de touros infetados, sendo possível ocorrer infecção por acasalamento ou inseminação artificial, apesar de rara (Hines, 2007). Em humanos foi descrita a transmissão venérea da doença no período de convalescença (Harrison & Fitzgerald, 1988). Os estudos no Cavalo são limitados não havendo relatos da transmissão da doença através do sémen ou por transferência de embriões. A infecção fetal foi já observada e resulta em aborto, em nados-mortos e no nascimento de poldros recém-nascidos debilitados (Hines, 2007).

3.3.1 Seroprevalência

Estudos de seroprevalência foram realizados em diversas espécies e confirmam que a infecção por *Leptospira* ocorre em todo o mundo, sendo mais comum que os casos de doença clínica. Em cavalos, a seroprevalência varia entre o 1 e os 95%, dependendo da região geográfica e dos serovares considerados. Títulos de anticorpos para uma grande variedade de serovares foram descritos em equinos, e embora ocorra alguma variabilidade entre estudos, em geral a seropositividade contra *L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae, Bratislava, Pomona, Ballum e Grippotyphosa tendem a ser as mais comuns (Hines, 2007). Estudos realizados na Holanda, Irlanda do Norte, Canadá e Estados Unidos sugerem que nestas regiões, os cavalos possam ser um hospedeiro de manutenção do serovar Bratislava, devido à sua elevada prevalência nesta espécie (Ellis *et al.*, 1983; Lees & Gale, 1994; Kitson-Piggot & Prescott, 1987; van den Ingh *et al.* 1989; Park *et al.* 1992).

Bem estabelecida com uma causa importante de aborto em bovinos e suínos, a leptospirose tem sido descrita esporadicamente como causa de aborto no Cavalo, mas limitações no diagnóstico laboratorial tornam difícil a determinação exata da prevalência (Hines, 2007). Num estudo que analisou 3527 casos de aborto, nados-mortos e morte neonatal em cavalos, a infecção feto-placentária causada por bactérias foi observada em 628 casos, 78 dos quais revelaram a presença de *Leptospira* (Giles *et al.*, 1993). No Kentucky foram identificadas leptospirosas em 2,5%-4,4% de fetos, nados-mortos e placentas analisados (Donahue, Smith, Redmon & Donahue, 1991; Donahue *et al.*, 1992).

Outros estudos demonstraram seroreactividade para *Leptospira* ou lesões oculares típicas de leptospirose na maioria do efetivo das coudelarias afetadas (Sillerud, Bey, Ball & Bistner, 1987; Brem, Gerhards, Wollanke, Meyer & Kopp, 1998; Wollanke, Gerhards., Brem, Kopp, & Meyer, 1998; Faber *et al.*, 2000). Os dados sugerem que um título de anticorpos anti-Pomona superior ou igual a 1:400 deve ser considerado um fator de risco importante para o desenvolvimento de URE no Cavalo (Gilger & Deeg, 2011). Por outro lado, a análise dos fluidos oculares ou de tecidos de cavalos afetados mostraram que leptospirosas e/ou o seu ADN podem ser isolados de cavalos com URE, mesmo que sejam seronegativos (Brem, Gerhards, Wollanke, Meyer, Kopp, 1999; Faber *et al.*, 2000; Wollanke, Rohrbach & Gerhards, 2001). Isto significa que embora a seroreatividade positiva para os grupos patogénicos de leptospirosas, particularmente Pomona e Grippotyphosa, esteja muitas vezes associada à etiologia da URE, animais seronegativos podem estar infetados por *Leptospira* (Gilger & Deeg, 2011).

Hartskeerl *et al.* (2004) analisaram amostras intraoculares de 501 cavalos com URE oriundas de vários países da Europa Ocidental, sendo que a maioria foi positiva para o serovar Grippotyphosa (78.2%). Dos restantes isolados foram isolados os serovares Australis (14.2%), Sejroe (3.6%), Pomona (2.5%) e Javanica (1.5%).

Num estudo realizado por Båverud, Gunnarsson, Engvall, Franzén e Egenvall (2009), em 2017 cavalos foram obtidas as seguintes seroprevalências: Bratislava (16.6%), Icterohaemorrhagiae (8.3%), Sejroe (1.2%), Pomona (0.5%) e Grippotyphosa (0.4%). De salientar que neste estudo não foi observada uma associação clara entre os sinais clínicos de doença e o título de anticorpos para o serovar Bratislava, o que reforça a possibilidade deste serovar estar a adaptar-se, progressivamente, ao Cavalo. Este trabalho sugere ainda que o aumento da idade e a exposição a fatores associados à vida no exterior aumentam a prevalência do serovar Bratislava.

Um estudo retrospectivo e transversal recente determinou a seroprevalência da leptospirose em cavalos saudáveis da Suíça. Dos 615 cavalos analisados, 58,5% foram seropositivos para um ou mais dos serovares. O serovar mais prevalente foi Pyrogenes (22,6%), seguido pelos serovares Canicola (22,1%) e Australis (19,2%) (Blatti, Overesch, Gerber, Frey, & Hüsey, 2011). Num estudo efectuado na Itália, o soro de 386 cavalos foi submetido ao Teste de Aglutinação Microscópica (TAM) para detetar os serovares Bratislava, Ballum, Canicola,

Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Hardjo, Pomona e Tarassovi. Apenas três animais foram positivos para o serovar Icterohaemorrhagiae, dois para Bratislava, e um para Pomona, uma seroprevalência positiva total de 1,5%. (Ebani, Bertelloni, Pinzauti, & Cerri, 2012). No Brasil, as seroprevalências variam entre os 66% e os 74% e os serovares mais prevalentes são Bratislava, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Hebdomadis, Castellonis e Pyrogenes (Hashimoto *et al.*, 2007; Jorge *et al.*, 2011).

Em Portugal, um estudo realizado com soros de 545 cavalos mostrou que a prevalência de infecção por *Leptospira* tem vindo a aumentar, e que os serovares mais prevalentes são o Australis (20,5%) e o Pomona (17,7%) (Rocha, 2004).

3.3.2 Fatores de Risco

Diversos estudos têm apontado diferentes fatores de risco na infecção do Cavalo por *Leptospira* (Hines, 2007). Num estudo canadiano com 1923 cavalos, nos quais a seroprevalência variou entre os 0,8% e os 94,6% consoante o serovar pesquisado, a idade foi associada significativamente à seroconversão, aumentando a probabilidade do animal ser seropositivo em 10% por cada ano de vida (Lees & Gale, 1994). Adicionalmente, os cavalos que foram mantidos isolados (cavalos de corridas), apresentaram cerca de metade da prevalência, comparativamente aos cavalos mantidos em grupo (cavalos de rodeo). Outros estudos corroboraram a associação entre o aumento da prevalência com o avanço da idade; Barwick, Mohammed, McDonough e White (1997), avaliaram o soro de 2551 cavalos de 572 quintas do estado de Nova Iorque tendo usado um sistema multidimensional para identificar fatores de riscos associados a seropositividade para os vários serovares. Embora os resultados tenham variado para os diferentes serovares analisados, a idade foi novamente identificada como um fator de risco, assim como o tipo de estabulação. A densidade de cavalos mantidos no estábulo mostrou estar positivamente associada com um maior risco de seropositividade para alguns serovares (Barwick *et al.*, 1997).

Num estudo suíço recente, o aumento da idade e do tempo passado na pastagem foram fatores de risco na infecção por *Leptospira*, verificando-se, adicionalmente, picos de prevalência no verão e outono (Blatti *et al.*, 2011).

No Cavalo, a infecção ocorre sobretudo quando este bebe água contaminada pela urina de espécies de manutenção. Assim, cavalos que pastem próximo de suínos, bovinos ou veados não vacinados ou em quintas infestadas por ratos têm um maior risco de infecção. Por outro lado a existência de lagos ou lagoas na propriedade ou a proximidade de um rio são outros fatores de risco a ter em conta (Gilger & Deeg, 2011).

3.4 Patogenia

A principal porta de entrada de *Leptospira* é a penetração através das mucosas e de pele lesionada. Ocasionalmente, estes microrganismos podem entrar por inalação, ingestão ou mordedura. Tal como na maioria das doenças infecciosas, o efeito da exposição ao agente etiológico depende da dose, da virulência e da suscetibilidade do hospedeiro. Após a invasão do sistema circulatório, as leptospirosas multiplicam-se e disseminam-se para vários órgãos. A bacteriemia ocorre tipicamente entre os 4 e os 10 dias após a exposição. Não parece existir algum tipo especial de tropismo tecidual específico, replicando-se, por exemplo nos rins, no fígado, no baço, no sistema nervoso central, no olho, na glândula mamária, e no aparelho genital (Hines, 2007). Apesar de serem fagocitadas pelos macrófagos hepáticos e pulmonares, nos animais suscetíveis, a disseminação continua até que concentrações elevadas de leptospirosas possam ser encontradas no sangue e nos tecidos. Nesta fase da doença ocorrem alterações severas e lesões devidas à ação de toxinas de *Leptospira* em muitos tecidos (Rocha, 2004). A ação dos flagelos axiais e a libertação de hialuronidases promove a invasão microbiana, especialmente no SNC e no olho. Concomitantemente, a infeção fetal pode ocorrer após infeção uterina. Sob a forma crónica, estes microrganismos podem persistir durante décadas, nas células epiteliais dos túbulos renais (Hines, 2007).

A recuperação da infeção depende da dose infetante, da taxa de multiplicação, da virulência das estirpes envolvidas e da extensão dos danos nos órgãos vitais. A existência simultânea de populações de leptospirosas patogénicas do mesmo serovar com diferentes virulências já foi cabalmente demonstrada. A leptospirose reduz-se com o aparecimento de anticorpos circulantes que aglutinam e opsonizam as leptospirosas e com a posterior fagocitose e eliminação das leptospirosas na circulação sanguínea (Rocha, 2004). A resposta imunitária humoral parece ser responsável pelo controlo da infeção sendo os anticorpos predominantemente contra os epítomos do invólucro externo. A deteção no soro pode ser realizada entre 4 a 8 dias após a exposição ao agente (Hines, 2007; Gilger & Deeg, 2011). Graças à resposta imunitária desenvolvida pelo animal, as leptospirosas acabam por ser removidas da circulação e dos órgãos e, os danos tecidulares, mesmo que graves, podem ser reversíveis e seguidos de reparação completa. Os animais que sobrevivam à infeção e ao episódio clínico podem tornar-se portadores crónicos eliminando leptospirosas pela urina. No entanto, as lesões crónicas (por exemplo a nefrite intersticial crónica) podem resultar em complicações secundárias por implicarem cicatrização e retração tecidual. (Rocha, 2004).

A imunidade humoral é normalmente específica para cada serovar específico e alguns serovares próximos. Quando a infeção é causada por um serovar adaptado ao hospedeiro (hospedeiro de manutenção), as concentrações de anticorpos tendem a permanecer baixas, permitindo a persistência das espiroquetas no organismo particularmente no rim. A infeção fetal, especialmente no terceiro trimestre pode resultar numa resposta humoral específica que pode conferir proteção (imunidade passiva) podendo ocorrer uma resposta imune celular que

tem um papel mínimo na proteção. A duração da imunidade para a *Leptospira* é variável (Hines, 2007).

3.4.1 Especificidade e variação antigénica

Os principais antígenos de *Leptospira* estão localizados no invólucro externo e nos filamentos axiais sendo, na sua maioria, proteínas e lipopolissacáridos. Os lipopolissacáridos do invólucro externo têm uma composição semelhante aos de outras bactérias gram-negativas, mas menor atividade endotóxica. Contudo, os seus epítomos são os principais locais de adesão de quase todas as imunoglobinas produzidas durante a resposta imunitária à *Leptospira* sendo, portanto altamente imunogénicos. São também, por isso, os principais antígenos a contribuir na aglutinação (Rocha, 2004).

Por outro lado as proteínas de superfície são importantes na investigação que visa compreender e caracterizar a patogenia e a imunologia durante a leptospirose. Por estarem localizadas na superfície das células bacterianas são importantes nas interações bactéria-hospedeiro, nomeadamente, na colonização da superfície apical das células tubulares proximais do rim, e no desenvolvimento de vacinas. Observou-se uma grande similaridade entre proteínas nos vários serovares, encontrando-se diferenças na sua quantidade relativa, o que é um achado importante em termos imunológicos. Algumas das vacinas atualmente disponíveis têm reduzida eficácia, provavelmente por se basearem em lipopolisacaridos específicos de um único serovar (Rocha, 2004).

A LipL32 foi identificada como sendo a proteína do invólucro externo mais abundante e o antígeno proteico dominante. A comparação das sequências amino-ácídicas entre seis serovares mostrou uma elevada homologia, o que significa que técnicas de diagnóstico baseadas neste antígeno seriam eficazes na deteção dos diferentes serovares estudados (Rocha, 2004).

O antígeno LipL41 também está envolvido na resposta humoral durante a infeção, uma vez que uma parte significativa está presente na superfície da membrana. Outras lipoproteínas parecem ter utilidade limitada no diagnóstico, uma vez que a sua expressão pode estar diminuída, ao contrário das duas proteínas anteriormente referidas (Rocha, 2004).

Em humanos, a resposta humoral anti-LipL32 foi identificada como o marcador serológico mais fiável de infeção, por análise em *imunoblot*. De salientar que a especificidade e a sensibilidade deste teste não aumenta significativamente com a utilização de outros antígenos proteicos de *Leptospira*. Foi também sugerido que a pesquisa de anticorpos anti-LipL32 pode ser útil na identificação de casos que escapam à deteção nos testes *standard*, e quando há resposta imunitária cruzada em pacientes com sífilis, hepatite e dengue. Deste modo compreende-se a importância do estudo das proteínas do invólucro externo, dadas as potenciais aplicações no desenvolvimento de testes de diagnóstico mais rápidos e sensíveis e na formulação de vacinas (Rocha, 2004).

Os flagelos periplásmicos das leptospiiras são muito semelhantes aos das bactérias gram-negativas e altamente imunogénicos, que na infeção experimental, quer na infeção natural. Mostram uma composição proteica e uma estrutura complexa. Algumas destas proteínas são comuns aos vários genótipos, reagindo em *imunoblot* tanto a soros anti-*Leptospira* como a soros anti-flagelares, homólogos ou heterólogos. Estudos confirmaram que os flagelos periplásmicos de *L. interrogans* contêm duas proteínas de 34 e 3,5 kDa e, provavelmente, outras proteínas mais pequenas. Assim estas duas proteínas poderiam ser importantes como antígenos específicos em testes de ELISA, contudo o facto de mostrarem reações cruzadas com outras infeções indica que não devem ser utilizadas no diagnóstico (Rocha, 2004).

A especificidade antigénica pode ser determinada a vários níveis; antígenos específicos de género ocorrem em todos os membros do género *Leptospira* e alguns apresentam reações cruzadas com antígenos de outras bactérias. Antígenos específicos de espécie estão presentes em todos os membros de cada espécie. A especificidade do serovar é crítica para o diagnóstico correto, no entanto, o conceito de antígeno específico de serovar é confuso. Assume-se que há um ou mais antígenos específicos que são característicos e únicos para um dado serovar. Não obstante, a especificidade do serovar depende das espécies animais consideradas, da classe de imunoglobulina estimulada e de outros fatores. Ainda assim, podem existir grupos de antígenos característicos de alguns serovares e não de outros. Os epítomos que determinam a especificidade para o serovar estão em diferentes subunidades dos LPS e são diferentes daqueles que determinam especificidade de serogrupo. Variações nas cadeias laterais dos LPS são responsáveis pela diversidade antigénica observada nos diferentes serovares de *Leptospira*, onde cerca de 250 já foram identificados (Rocha, 2004). Apesar dos antígenos de LPS e dos glicolípidos de *L. interrogans* terem sido propostos como antígenos específicos de serovar ou de serogrupo, estudos recentes indicam que estes podem conter epítomos responsáveis por reações cruzadas. De salientar que antígenos não aglutinantes podem ser considerados quando antígenos específicos de género e de espécie reagem, em ELISA, com todos os membros dos géneros *Leptospira* e *Leptonema* (Rocha, 2004).

As leptospiiras, tal como outros microrganismos, podem apresentar variação antigénica, o que implica grandes variações na virulência do agente patogénico. Todas as culturas de *Leptospira* apresentam o potencial para o desenvolvimento espontâneo de mutantes, reconhecidos pelas diferenças antigénicas face à linha parental e detetados pela exposição a antissoros ou a anticorpos monoclonais contra a linha parental. Este é um facto importante que deverá ser considerado na classificação de estirpes de *Leptospira* (Rocha, 2004).

Adicionalmente, variantes antigénicas podem ser isoladas a partir de sangue, órgãos ou urina de animais naturalmente ou experimentalmente infetados. Verificou-se que a frequência das variações antigénicas é maior *in vivo* do que *in vitro*, o que sugere ser uma estratégia capaz de iludir a resposta imunitária do hospedeiro. Deve também considerar-se que os mecanismos

descritos poderão existir para permitir a adaptação ambiental das leptospiros patogénicas a ambientes extremos. Com efeito, a *Leptospira* deverá ter características metabólicas que lhe permita sobreviver e multiplicar em condições tão diversas como as do hospedeiro animal (temperaturas febris em infeções agudas ou osmolaridades elevadas nos túbulos renais), as ambientais (água, solo, pântanos e esgoto), assim como em culturas de laboratório (Rocha, 2004).

Existem diferenças claras entre a virulência dos diferentes isolados de *Leptospira*, mas a informação relativa aos fatores de virulência específicos e o seu papel na patogenia é escassa. Diversas proteínas do invólucro externo (incluindo lipopolissacarídeos) podem contribuir para a virulência, uma vez que o LPS é altamente imunogénico. Os componentes do invólucro externo parecem desempenhar um papel relevante na patogenia da nefrite intersticial e como promotores de atividades antifagocíticas (Hines, 2007).

Outros fatores para além das proteínas do invólucro externo contribuem para a virulência das leptospiros; toxinas, são produzidas por algumas estirpes patogénicas; diversos serovares, incluindo Pomona e Hardjo, produzem hemolisinas; citotoxinas proteicas e glicoproteicas já foram também identificadas. Leptospiros virulentas podem induzir apoptose *in vitro* e *in vivo*, e concentrações aumentadas de citocinas inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa, são observadas em pacientes com leptospirose (Hines, 2007).

3.4.2 Mecanismos de Patogenia

O mecanismo exato através do qual as leptospiros causam doença não é ainda totalmente conhecido. Uma característica da doença é a intensa vasculite sistémica que se desenvolve; estudos em ratos mostraram que a membrana celular do endotélio é alterada por uma toxina glicoproteica que remove a cadeia longa de ácidos gordos necessária à manutenção da integridade vascular. Este dano no endotélio facilita a migração de espiroquetas para os tecidos, assim como o extravasamento capilar e a hemorragia, com a alteração da arquitetura tecidular, isquémia e necrose que justificam o vasto espectro de sinais clínicos dependentes da virulência do agente e da gravidade da infeção (Hines, 2007).

A virulência tem sido fortemente associada à capacidade das leptospiros aderirem a células eucarióticas. Foi demonstrado *in vitro* que as leptospiros virulentas aderem melhor às células epiteliais do rim do que as não virulentas, e que a sua adesão é promovida pela concentração dos anticorpos homólogos sub-aglutinantes. Os mecanismos moleculares de adesão não são ainda totalmente claros, mas já se sabe que as leptospiros aderem à matriz extracelular das células eucarióticas e que esta ligação é favorecida em estirpes virulentas. A aderência diminui após a exposição a proteases, mas não com periodato, o que indica que são proteínas e não o LPS que estão envolvidas neste processo (Rocha, 2004).

Adicionalmente, muitos serovares patogénicos codificam para proteínas de ligação à fibronectina que deverão ser fatores de virulência importantes. A ligação à fibronectina deverá facilitar a colonização do hospedeiro pela ligação das bactérias a uma variedade de células e

tecidos. Uma proteína que é expressa na superfície das estirpes virulentas de *L. interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae, mas não nas estirpes avirulentas, foi identificada, podendo ser decisiva na adesão inicial da *Leptospira* e na invasão cutânea ou mucosa e na disseminação pelos órgãos-alvo (Rocha, 2004).

A capacidade de motilidade das leptospiros em meios viscosos pode também desempenhar um papel importante no desenvolvimento da doença. É provável que seja relevante na infecção inicial e na disseminação do local de entrada para os locais de lesão nos órgãos (pulmão, fígado, rim, cérebro e olho). Igualmente associadas à motilidade foram identificadas várias proteínas quimiotáticas que, provavelmente, conferem vantagens seletivas na adaptação ao hospedeiro e na migração tecidual (Rocha, 2004).

Os estudos iniciais sobre a patogénese da *Leptospira* sugeriam que as leptospiros seriam bactérias extracelulares, capazes de penetrar ativamente entre as células por descolamento das *tight junctions*, sem que ocorressem danos celulares. No entanto, outros estudos relataram a presença de leptospiros no espaço intracelular, sugerindo que penetraram as células através das membranas danificadas. Por outro lado, estudos posteriores vieram demonstrar que as estirpes virulentas de *Leptospira* podem facilmente invadir as células eucarióticas intactas, comportando-se como verdadeiras bactérias invasoras (Rocha, 2004).

Existem também numerosos estudos de citotoxicidade publicados mas não foram ainda obtidas conclusões definitivas devido às múltiplas variáveis que estão envolvidas tais como: os serotipos e as estirpes analisadas, a origem e a virulência das culturas, o meio de crescimento, a idade e a fase de crescimento da cultura. Sabe-se que a invasão bacteriana e a toxicidade da membrana externa, associadas à produção de citoquinas e de quimioquinas são importantes na lesão celular. Adicionalmente as atividades endotóxica, hemolítica, esfingomiéica e fosfolípídica foram descritas *in vitro*. A esfingomielinase C foi identificada como sendo responsável pela hemólise no serovar Pomona, por induzir à formação de poros nas membranas das células de mamífero. A hemólise foi também atribuída às fosfolipases; por estas clivarem a membrana dos eritrócitos e de outras células que contenham fosfolípidios, levando a citólise (Rocha, 2004).

Sabe-se que o LPS de *Leptospira* é consideravelmente menos tóxico do que o LPS das bactérias Gram-negativas. No entanto, o LPS das leptospiros estimula a adesão dos neutrófilos às células endoteliais e às plaquetas, causando agregação celular e trombocitopénia. Estas moléculas apresentam, igualmente, um papel na resistência de leptospiros patogénicas aos anticorpos e ao sistema complemento do hospedeiro. De facto, foram observadas diferenças quantitativas e qualitativas nos LPS entre estirpes virulentas e atenuadas de *Leptospira interrogans* serovar Grippotyphosa (Rocha, 2004).

A gravidade clínica da leptospirose nem sempre está associada à gravidade dos achados histopatológicos, sendo a resposta imunitária uma variável que influencia a gravidade dos sintomas. Existem evidências de que a autoimunidade pode ser importante no progresso das

lesões renais em cães e, em hamsters, foi sugerido que os processos autoimunes podem desencadear leucocitose, glomerulopatia trombótica, alterações do endotélio e hemorragias (Rocha, 2004). Nos humanos e nos cavalos, a autoimunidade também foi apontada como o principal mecanismo patogénico da leptospirose ocular. No Cavalo, foram detetadas leptospirosas no humor vítreo e no aquoso em casos de URE (Faber *et al.*, 2000), que podem ocorrer após uma infeção generalizada (Rocha, 2004). Diversos autoanticorpos, incluindo anticorpos anti-plaquetas, foram detetados em animais com leptospirose clínica, mas o seu papel na patogenia é ainda incerto (Hines, 2007).

Por outro lado, a produção de imunocomplexos resulta numa inflamação do sistema nervoso central. Nos pacientes humanos, os níveis circulantes destes complexos imunes correlacionam-se com a gravidade da doença e, nos doentes que sobrevivem, a diminuição da sua concentração está relacionada com uma melhoria clínica. Este facto suporta a importância dos mecanismos imunomediados no desenvolvimento da patogenia por *Leptospira* (Levett, 2001; Hines, 2007).

3.5 Quadro clínico

A leptospirose clínica em cavalos foi inicialmente associada a abortos e a URE, apesar de casos esporádicos de doença sistémica terem sido descritos. Após a inoculação experimental de *Leptospira*, a febre foi o sinal clínico mais frequentemente observado, sendo a anorexia, a apatia e a icterícia por vezes assinaladas. A maioria dos cavalos mostram leucocitose e neutrofilia durante a fase aguda da infeção sendo, ocasionalmente, observada hiperbilirubinémia. Embora não tenha sido um achado consistente, alguns cavalos desenvolveram uveíte, geralmente vários meses após a exposição. A leptospirose pode levar ainda a infeção dos órgãos reprodutivos, o que em animais gestantes pode conduzir à reabsorção fetal, aborto, nado-mortos, ou a recém-nascidos debilitados (Hines, 2007). Um caso descrito na literatura descreve as repercussões oculares da infeção por *Leptospira* numa poldra de 2 anos, que se manifestaram por uma queratite não ulcerativa e não como URE (Wada *et al.*, 2003).

3.6 Diagnóstico Laboratorial

A infeção por *Leptospira* deve ser considerada no diagnóstico diferencial em pacientes com aborto, uveíte, doença hepática ou renal, em especial se a anamnese sugerir contacto com urina contaminada. Contudo, fazer um diagnóstico definitivo de leptospirose pode ser problemático devido à dificuldade na identificação do microrganismo e à seroprevalência elevada na população equina. Desta forma, diversos métodos de diagnóstico foram desenvolvidos, e mais estudos estão a ser levados a cabo para tornar estes métodos mais simples e mais fiáveis (Hines, 2007).

3.6.1 Métodos de detecção direta

As leptospiros são difíceis de visualizar em microscopia de campo claro porque não fixam os corantes tradicionais. Por este motivo, a microscopia de campo escuro é a mais utilizada na identificação destes microrganismos que aparecem como bastões delgados e acinzentados, com extremidades em “gancho” e móveis se viáveis; o enrolamento helicoidal pode conferir-lhes um aspeto “frisado”. Apesar da microscopia de campo escuro poder fornecer um diagnóstico presuntivo, a técnica não é muito sensível nem muito específica. Aproximadamente 10^4 a 10^5 leptospiros/ml são necessárias para que um organismo seja visível por campo. Outras bactérias móveis e filamentosas, extrusões celulares filamentosas ou filamentos de fibrina pode ser confundidos com leptospiros (Hines, 2007).

Felizmente, diversas amostras biológicas (sangue, urina, fluido cerebrospinal, leite e tecido macerado) podem ser examinadas por microscopia de campo escuro. Contudo, o microrganismo é mais facilmente identificado na urina devido à grande quantidade de leptospiros que são excretadas pelos animais infetados. Provocar a diurese parece favorecer a excreção das leptospiros dos rins, e se o paciente estiver bem hidratado, é recomendada a administração de furosemida e a colheita de urina, da segunda micção, desprezando os primeiros jatos. A urina deverá ser examinada no prazo máximo de 20 minutos porque os microrganismos deterioram-se rapidamente, especialmente, se a urina for ácida ou muito alcalina. Caso não possa ser examinada prontamente, é recomendada a neutralização do pH ou a adição de formalina, passo que tornará as leptospiros mortas e, portanto, imóveis, apesar da sua morfologia ser mantida. As leptospiros podem também ser identificadas no sangue, durante a bacteriemia, típica da fase aguda da doença. Normalmente, muito poucos microrganismos estão presentes no fluido cerebrospinal, pelo que uma centrifugação prévia poderá ajudar a concentrar as leptospiros (Hines, 2007).

A imunofluorescência e a coloração pela imunoperoxidase podem ser usadas para aumentar a sensibilidade na microscopia direta. Em particular, o teste de anticorpos imunofluorescentes (TAF) melhora a capacidade de identificação de leptospiros em fluídos, em tecidos e em esfregaços por aposição de tecidos. Embora as características morfológicas das leptospiros possam esbater-se na técnica de TAF, este é mais sensível que a microscopia de campo escuro e deteta leptospiros degeneradas e o serovar específico. Outros métodos de detecção foram avaliados, mas não estão ainda validados para o uso na prática clínica. De entre estes, estão incluídos: o radio-imunoensaio, o ELISA, o ELISA indirecto e o ensaio de captura de antígenos por imunomagnetismo (Hines, 2007).

Uma extensa variedade de corantes histológicos tem sido usados na detecção de leptospiros em tecidos. As leptospiros foram inicialmente observadas com corante de prata e corante Warthin-Starry, um corante de prata modificado. Outros corantes modificados utilizados são os de Dieterle e Steiner. Em alguns casos, as leptospiros podem ser observadas através de microscopia direta de tecidos ou em esfregaços com corante de Giemsa. Ambos os métodos

de imunofluorescência e de imunohistoquímica tem sido úteis na detecção de antígenos das leptospiros (Hines, 2007).

3.6.2 Cultura

A cultura foi considerada a técnica *gold standard* para o diagnóstico da leptospirose, apesar da sua baixa sensibilidade. As leptospiros são organismos de crescimento fastidiosos; alguns serovares (Hardjo e Bratislava) podem requerer períodos de incubação entre os 4 e os 6 meses, em meios especiais, mais frequentemente os meios de Ellinghausen, McCullough, Johnson e Harris (EMJH), a temperaturas de 28-30°C. Saliente-se o facto do crescimento das leptospiros pode ser rapidamente mascarado por outras espécies contaminantes, mas a adição de antibióticos ou de 5-fluorouracil pode prevenir esta situação. Ocasionalmente, as leptospiros têm sido expandidas a partir de fluídos e de tecidos de cães saudáveis podendo, portanto, a obtenção de culturas positivas não ter significado clínico (Hines, 2007).

Um bom *timing* e um manuseamento apropriado das amostras são essenciais para a recuperação das leptospiros. Idealmente, as amostras devem ser colhidas antes de se iniciar o protocolo terapêutico com antibióticos. De forma a melhorar o diagnóstico, a cultura de múltiplas amostras de sangue e de urina é aconselhada. Em adição o uso de furosemida é recomendado pelas razões atrás expostas. As culturas de sangue deverão ser efetuadas durante os primeiros 4 a 10 dias de infeção, quando os animais infetados têm maior probabilidade de apresentarem leptospiémia. Se indicado, podem ser colhidas amostras de fluído cerebrospinal no mesmo período de tempo. A libertação de leptospiros na urina tem início até 2 semanas após a infeção e esta pode continuar intermitentemente por períodos prolongados, especialmente, em casos crónicos (Hines, 2007).

Idealmente, as amostras deveriam ser inoculadas em meio de cultura logo após a sua colheita; contudo, isto nem sempre é possível e, neste caso, as amostras devem ser diluídas a 1:10 em 1% de albumina de soro bovino numa solução salina tamponada ou meio de cultura. Se as amostras de sangue não forem diluídas, deverão ser preservadas em oxalato de sódio, heparina sem conservantes ou em sódio polietileno. O citrato deve ser evitado porque inibe o crescimento das leptospiros. O pH da urina deve ser neutralizado se necessário. Quando enviadas por correio, amostras de tecidos e de fluídos não devem ser congeladas (Hines, 2007).

3.6.3 Metodologia ADN

Algumas técnicas moleculares, incluindo o “*dot blotting*”, a hibridização de ADN e a PCR têm sido aplicadas na identificação de leptospiros. Atualmente a PCR é a técnica molecular mais utilizada em medicina veterinária (urina e sêmen), tendo mostrado ser mais sensível que o TAF ou que a cultura *in vivo* (Hines, 2007). Contudo, um estudo recente continua a indicar a cultura *in vitro* como técnica *standard* na identificação de leptospiros porque 24% das amostras positivas testadas por PCR resultaram em falsos negativos (referido por Hines,

2007). Um estudo em cavalos com URE concluiu que a PCR era mais fiável que a cultura *in vitro* na deteção de leptospiros no humor aquoso (Faber *et al*, 2000).

3.6.4 Inoculação em animais

A inoculação intraperitoneal de urina, sangue, suspensões de tecido e amostras ambientais em hamsters, porquinhos-da-Índia e gerbilos tem sido usada no diagnóstico da leptospirose (Hines, 2007).

3.6.5 Serologia

O diagnóstico de leptospirose tem-se baseado, mais recentemente, em testes serológicos devido às dificuldades na observação direta e na cultura *in vitro*. Os anticorpos são detetados no sangue entre os 5 e os 7 dias após o início dos sinais, podendo as concentrações manterem-se elevadas durante vários anos. Os anticorpos podem ser detetados numa ampla variedade de amostras para além do sangue, sendo que nos cavalos a mais importante é o humor aquoso. O método de referência para o diagnóstico serológico é o teste de aglutinação microscópica (TAM), no qual se fazem reagir os soros suspeitos com suspensões de antigénios vivos de variados serovares de *Leptospira*, detetando tanto imunoglobulinas M como imunoglobulinas G. Os resultados são lidos em microscopia de campo escuro, sendo o limiar de positividade a maior diluição de soro na qual 50% das leptospiros são aglutinadas. É um teste específico para serogrupos, embora possam ocorrer reações cruzadas entre alguns serogrupos, especialmente durante a fase aguda da doença. O TAM tem uma alta especificidade, apesar de a sensibilidade poder ser baixa, em particular nas infeções por estirpes adaptadas ao hospedeiro (em hospedeiros reservatórios) onde as concentrações dos anticorpos são frequentemente baixas. (Hines, 2007).

Os testes serológicos devem ser interpretados com cuidado devido à exposição accidental e generalizada dos cavalos à *Leptospira*. O TAM tem sido utilizado na maioria dos estudos epidemiológicos, onde títulos iguais ou superiores a 100 são considerados positivos. Enquanto um título muito elevado (800 ou mais) associado a sinais clínicos é sugestivo de infeção aguda; um título elevado em amostras de soros *paired*, obtidos com duas semanas de intervalo é considerado uma forte evidência de infeção por *Leptospira*. Contudo, nos casos de uveíte ou de aborto, a infeção aguda pode ter ocorrido há vários meses e o título dos anticorpos ser baixo. Embora a vacinação de cavalos contra a leptospirose não seja comum, esta pode desencadear uma assinalável resposta humoral difícil de diferenciar da resposta por infeção natural (Hines, 2007).

Outras técnicas como a fixação do complemento, o ELISA, a hemaglutinação indireta e os testes intradérmicos foram desenvolvidas para a deteção de anticorpos anti-*Leptospira*. Destas a mais amplamente utilizada em veterinária é o ELISA que mostra boa especificidade e maior sensibilidade que o TAM; tanto as imunoglobulinas (Ig) M como as IgG podem ser

detetadas pelo ensaio de ELISA, sendo que um teste positivo para IgM sugestivo de infecção recente, com menos de um mês (Hines, 2007).

3.6.6 Diagnóstico de Uveíte Recorrente Equina.

Confirmar que a leptospirose é a causa de URE pode ser difícil. A importância dos anticorpos no soro é discutível devido à alta prevalência de animais seropositivos e aos resultados contraditórios nos estudos efetuados, apesar de diversos trabalhos terem demonstrado uma correlação positiva entre a URE e a seroreactividade contra *Leptospira*. Por exemplo, num estudo com 372 cavalos realizado por Dwyer, Crockett e Kalsow (1995), os cavalos seropositivos tinham 13,2 vezes maior probabilidade de apresentar uveíte que os cavalos seronegativos. Contudo, outros estudos não confirmaram esta associação significativa. Num estudo, realizado em 30 cavalos com URE e em 16 controlos negativos, não foi encontrada nenhuma correlação entre os resultados serológicos e a presença de ADN de *Leptospira* ou do agente no humor aquoso (Faber *et al.*, 2000). Noutro estudo, 4 em 41 cavalos com URE e com culturas do corpo vítreo positivas para *Leptospira*, foram seronegativos (Gerhards, Wollanke & Brem, 1999). Devido à diferença temporal entre a infecção e o desenvolvimento de uveíte, nem sempre é possível afirmar que um resultado serológico negativo da serologia signifique que a uveíte não está associada à infecção por *Leptospira*.

Estudos como este último levaram muitos investigadores a concluir que os testes serológicos têm baixa sensibilidade e especificidade no diagnóstico correto de uveíte por *Leptospira*. Alguns sugerem que a presença de anticorpos anti-*Leptospira* no humor vítreo ou aquoso é um indicador mais fiável do que a serologia para o estabelecimento de um diagnóstico correto de uveíte por *Leptospira* (Hines, 2007). Contudo, Wollanke *et al.* (2001), num estudo com 242 cavalos com URE e 39 animais saudáveis, concluíram que apenas 76% dos cavalos em que o organismo foi isolado mostravam títulos de anticorpos no humor vítreo quatro ou mais vezes os títulos séricos.

Diversos trabalhos já publicados demonstraram a presença de leptospirose no olho de cavalos com URE, o que poderá resultar de uma infecção persistente (Hines, 2007). No estudo realizado por Wollanke *et al.* (2001), em 120 cavalos e em que *L. interrogans* foi isolada no corpo vítreo, 38% estavam clinicamente sintomáticos há mais de 1 ano. No estudo efetuado por Faber *et al.* (2000), nos EUA, 21 dos 30 cavalos (70%) com URE mostraram ADN de *Leptospira* no humor aquoso por PCR, comparativamente a 1 de 16 cavalos do grupo de controlo (6,25%). Neste estudo, apenas 6 dos 17 cavalos com uveíte (22,2%) foram positivos à cultura do humor aquoso, levando os investigadores a concluir que a técnica de PCR é mais fiável do que a cultura para a deteção de leptospirose na URE. Amostras de humor vítreo foram cultivadas em diversos estudos de URE, e foram isoladas leptospirose entre 9% a 50% das amostras de olhos com uveíte, sendo o serogrupo mais comum o Grippotyphosa (Brem *et al.*, 1998; Brem *et al.*, 1999; Wollanke *et al.*, 2001; Hartskeerl *et al.*, 2004). Esta observação

levantou a hipótese de que embora muitos serovares patogénicos sejam capazes de penetrar no olho, apenas alguns sejam capazes de nele persistir.

Num estudo de Gilger *et al.* (2008) não foi possível detetar o ADN de *Leptospira* no humor aquoso ou no humor vítreo de cavalos com URE. Adicionalmente não foi encontrada diferença significativa no título de anticorpos anti-*Leptospira* séricos ou no humor aquoso entre cavalos afetados e o grupo controlo. Assim, os autores concluíram que a *Leptospira* poderá ter ajudado a desencadear a URE em alguns casos, mas a presença contínua destes organismos não é indispensável na patogénese recorrente da doença. Noutro estudo realizado por Pearce *et al.* (2007), foi concluído que as leptospirosas não são frequentemente detetáveis nos tecidos oculares fixados de cavalos com URE através das técnicas tradicionais de imunohistoquímica e por *real time* PCR.

Um estudo no Brasil, em cavalos seroreactivos para *Leptospira* e com uveíte, 26 de 38 animais (68.4%) mostraram a presença de anticorpos anti-*Leptospira* no humor aquoso, todos contra o serovar Icterohaemorrhagiae. Contudo, não foram encontradas leptospirosas por microscopia de campo escuro (Braga, Hamond, Martins & Lilenbaum, 2010). Um estudo realizado no ano seguinte, pelo mesmo grupo, em 199 cavalos (Braga, Hamond, Martins, Abreu. & Lilenbaum, 2011) detetou seroreactividades anti-*Leptospira* em 53,8% dos animais, embora apenas 41,1% contra o serovar Icterohaemorrhagiae. Ao exame oftalmológico, muitas alterações oculares foram mais frequentes em cavalos seroreativos para o serovar Icterohaemorrhagiae. Noutro estudo, 24% dos animais avaliados (4/17) apresentaram leptospirosas no vítreo, ao exame ultraestrutural por microscopia eletrónica. As leptospirosas apresentavam-se rodeadas por um rim de material proteáceo mais reduzido nas leptospirosas fagocitadas; 94% (16/17) das amostras de vítreo mostravam níveis significativos de anticorpos anti-*Leptospira* detetados por TAM, a maior parte contra o serovar Grippotyphosa. Pela PCR todas as amostras foram positivas (16/16). Estes dados suportam, no seu conjunto, a teoria de que as leptospirosas têm um papel importante na patogenia da URE e que a infeção persistente é a causa etiológica de URE (Brandes, Wollanke, Niedermaier, Brem & Gerhards, 2007).

Por outro lado, esta dicotomia de resultados entre os estudos europeus e os estudos americanos sugere fortemente que a etiologia da URE não é semelhante nos dois continentes, sendo necessários mais estudos para clarificar este assunto.

Contrariamente ao que se passa na medicina humana, ainda não foram desenvolvidos critérios clínicos ou um sistema de pontos para o diagnóstico de URE associada à *Leptospira* nos casos em que a serologia é negativa (Verma, Stevenson & Adler, 2013).

3.7 Quadros Lesionais

A informação relativa aos achados patológicos observados na leptospirose sistémica em equinos é limitada. Geralmente esta doença caracteriza-se por uma vasculite com lesão endotelial acompanhada de infiltrados inflamatórios compostos por células monocíticas,

histiócitos e neutrófilos. Lesões adicionais podem ser encontradas em vários tecidos: icterícia, hemorragias pulmonares, glomerulonefrite, edema renal intersticial e nefrite tubulointersticial foram descritas em cavalos (Hines, 2007). Lesões macroscópicas e histológicas foram igualmente identificadas em placentas e em fetos após abortos por *Leptospira* incluindo: lesões de edema, nódulos quísticos na alantoide, necrose do córion com exsudado necrótico mucoíde, trombose, vasculite, infiltração celular inflamatória do estroma e das vilosidades, hiperplasia do epitélio alantóico, necrose das vilosidades e calcificação. Nos fetos e nados mortos, as lesões mais observadas foram no fígado e nos rins (Hines, 2007).

3.8 Tratamento

O tratamento apropriado para a leptospirose depende da gravidade e da duração dos sinais clínicos, assim como do local de infecção. Alguns casos podem resolver-se espontaneamente ou com terapêutica de suporte. Contudo, a terapêutica antimicrobiana específica tem de ser prescrita em alguns pacientes, apesar de serem limitados os estudos que relacionam a eficácia do tratamento numa determinada espécie. Os resultados obtidos *in vivo* e *in vitro* têm sido contraditórios no que toca à suscetibilidade. Adicionalmente, a eficácia do antibiótico pode variar quando se trata pacientes com doença em fase aguda *versus* doença crónica. Em geral, os antibióticos aos quais as leptospirosas parecem ser suscetíveis incluem a penicilina, a ampicilina, a amoxilina, a cefotaxima, a ceftiofur, a eritromicina e a ciprofloxacina. Em alguns isolados foi documentada a resistência às sulfonamidas, ao cloranfenicol e à cefalotina (Hines, 2007).

Atualmente, a penicilina e a doxiciclina são os fármacos recomendados no tratamento de leptospirose em humanos. Embora o efeito destes antibióticos na duração e no desfecho da doença clínica tenha sido variável, em pacientes humanos preveniu a leptospirúria ou reduziu significativamente a sua duração. A dihidroestreptomicina, a tetraciclina e a eritromicina têm demonstrado prevenir a excreção urinária em animais de laboratório. Relatos de eficácia da dihidroestreptomicina na eliminação do estado de portador no gado bovino e suíno têm sido contraditórios (Hines, 2007).

Até ao momento não existem estudos específicos que abordem a terapêutica antibiótica para a leptospirose no Cavalos. Os antibióticos recomendados incluem a penicilina, a estreptomicina, a dihidroestreptomicina, a oxitetraciclina e a eritromicina. A tetraciclina, a penicilina e a dihidroestreptomicina falharam em eliminar a excreção em cavalos. A penicilina tem sido administrada a éguas em gestação tardia e com títulos de *Leptospira* crescentes, permitindo o nascimento de poldros normais. Dois cavalos com insuficiência renal aguda foram tratados com penicilina e um terceiro com ácido clavulânico e ticarcilina, todos com um resultado positivo. Um poldro prematuro com hematúria e leptospirúria foi tratado com penicilina e sulfato de ampicilina de forma satisfatória. Em todos os casos, uma terapêutica adjuvante com fluídos intravenosos e furosemda foi efetuada. Uma vez que os cavalos com

leptospirose clínica podem apresentar-se azotémicos é importante considerar o potencial de nefrotoxicidade quando se seleciona o antibiótico (Hines, 2007).

3.9 Prevenção e Controlo

Limitar a exposição dos animais a águas estagnadas e a potenciais espécies portadoras (bovinos, suínos, roedores e animais silváticos) pode ajudar a controlar a leptospirose. Numa quinta com abortos induzidos por *Leptospira*, em que numerosos animais silváticos de várias espécies tinham sido observados na área durante o período de alimentação, a doença desapareceu quando os animais deixaram de ser alimentados com comida espalhada no chão. Os animais infetados foram isolados, as áreas contaminadas limpas e desinfetadas (Hines, 2007).

Para os humanos que frequentem ambientes de alto risco, a doxiciclina, uma vez por semana, é eficaz na profilaxia a curto prazo. Esta prática é um pouco controversa devido à possibilidade de desenvolvimento de resistências e, por isso, não é recomendada em cavalos (Hines, 2007).

3.10 Importância Atual - Perspetiva económica e de saúde pública

A Leptospirose é talvez a zoonose com maior dispersão mundial e, recentemente, a incidência de casos clínicos aumentou, resultando na sua classificação como uma doença reemergente; sendo a incidência mais elevada em países com climas quentes. O quadro sintomático em humanos e em animais é muito extenso. Na maioria dos casos, a doença é subclínica ou ligeira, contudo 5 a 10% dos pacientes pode desenvolver leptospirose com icterícia grave e envolvimento multisistémico. A mortalidade nestes pacientes humanos varia entre os 5 e os 15 % (Hines, 2007). A fonte de infeção em humanos é, normalmente, o contacto direto ou indireto com a urina de animais infetados. O tipo de ocupação é um fator de risco bem estabelecido nos humanos, com agricultores, sobretudo na parte leiteira, veterinários e magarefes, a apresentarem um risco elevado. Os trabalhadores devem ser cuidadosos quando lidam com animais infetados. Deve-se usar luvas de látex quando se manipula urina ou materiais contaminados e as áreas contaminadas devem ser lavadas com detergente e tratadas com desinfetantes (iodofóros). Algumas atividades recreacionais, tais como desportos aquáticos e caça também aumentam o risco de exposição (Hines, 2007).

4. Uveíte Recorrente Equina

A uveíte recorrente equina (URE), também conhecida como cegueira da lua, iridociclite, ou oftalmia periódica, é frequentemente citada como a causa mais comum de cegueira em cavalos (Dwyer *et al.*, 1995; Faber *et al.*, 2000; Gilger & Deeg, 2011). Esta síndrome imunomediada de panuveíte apresenta prevalências entre os 8 e os 10% na Europa (Deeg *et al.*, 2008; Spiess, 2010) e os 2% a os 25% nos Estados Unidos (Gilger & Deeg, 2011; Regan *et al.*, 2012). Observações de campo indicam que 1% a 2% de todos os cavalos dos EUA sofrem de doença clínica grave e que poderão vir a perder a visão (Dwyer *et al.*, 1995).

A prevalência da URE varia com a localização geográfica e o clima, podendo, nos locais endêmicos, afetar 40% da população. Foi observado que nas regiões com solos argilosos e com inundações frequentes a prevalência pode atingir os 70%, enquanto em áreas com solos calcários e mais secos a prevalência da infecção ronda os 5%. Na Alemanha Ocidental, um estudo aponta uma prevalência de 8% (Szemes & Gerhards, 2000). É portanto uma doença importante e com impacto significativo em medicina equina.

Esta síndrome que se caracteriza por episódios recorrentes de inflamação intraocular mostra períodos de remissão ("quiescência"), sem quaisquer sinais de inflamação intraocular ativa. As recaídas são geralmente separadas por semanas, meses ou anos, e a inflamação é tipicamente granulomatosa (Faber *et al.*, 2000; Gilger & Deeg, 2011). A URE geralmente desenvolve-se após um surto inicial de uveíte primária, em que as causas desta, os fatores ambientais e as características genéticas do cavalo desempenham um papel crítico no desenvolvimento da doença (Gilger & Deeg, 2011).

Doenças semelhantes à URE foram descritas em cavalos desde que Vegécio escreveu sobre inflamação ocular recorrente no século IV a. C.. Inicialmente, pensou-se que a doença fosse causada pelas fases da lua, daí o termo descritivo "Cegueira da lua" (*oculus lunaticus*) e os tratamentos eram bastante rudimentares. Nos séculos XVIII, XIX e o início do século XX houve muita especulação sobre a etiologia da URE e, até 1940, as teorias prevalentes incluíam várias causas infecciosas, predisposição hereditária, insuficiência da tiroide, deficiência em riboflavina, hipersensibilidade a toxinas e parasitas (Spiess, 2010; Gilger & Deeg, 2011).

Em 1947, Rimpau apresentou alguns casos de uveíte e associou-os à leptospirose, e no ano seguinte, Heusser publicou dados que correlacionavam o título de anticorpos seroaglutinantes anti-*L. interrogans* serogrupo Grippotyphosa, Pomona e Australis, com a URE em cavalos alemães (Gilger & Deeg, 2011).

A análise de casos ocorridos num surto de leptospirose aguda em duas quintas em Nova Iorque, em 1952, mostrou que 6 de 15 cavalos desenvolveram doença sistémica aguda por infecção com *L. interrogans* serogrupo Pomona e, embora todos os cavalos tenham recuperado, um desenvolveu uveíte durante a fase aguda da doença, que depois se tornou recorrente. A maioria dos restantes 5 cavalos desenvolveu URE 18 a 24 meses após a infecção

inicial. Este padrão é típico de URE associada à Leptospirose – sinais oculares no momento da infecção aguda estão geralmente ausentes ou são ligeiros, enquanto uma inflamação ocular evidente só se desenvolve meses ou anos mais tarde. A recorrência da uveíte é muito típica, com os episódios de inflamação, subsequentes a apresentarem maior gravidade, encontrando-se a visão comprometida (Gilger & Deeg, 2011).

O trabalho experimental que tentou reproduzir este padrão foi realizado em 1960, na Universidade de Purdue, nos EUA. A uveíte foi induzida num grupo de pôneis após injeção subcutânea de sangue de cobra contendo *L. interrogans* serogrupo Pomona. Todos os pôneis desenvolveram infecção sistêmica auto-limitante e a qual se seguiu o desenvolvimento de inflamação ocular nos 15 meses seguintes à indução. A uveíte recorrente resultante variou em intensidade, mas levou sempre a sequelas e cegueira em muitos casos. A análise posterior dos tecidos oculares mostrou que a patologia e a imunopatologia da doença experimental é muito semelhante à de casos de URE em cavalos naturalmente infetados (Gilger & Deeg, 2011).

O isolamento de *L. interrogans* serogrupo Pomona no humor aquoso de cavalos afetados com URE foi relatado em 1977, na Califórnia e na Alemanha e em alguns casos o ADN de *Leptospira* foi detetado mas a cultura foi negativa (Gilger & Deeg, 2011). Nas últimas décadas, a uveíte equina tem sido descrita como um resultado da infecção natural/experimental por *Leptospira* (Faber *et al.*, 2000), apesar das lesões oculares ocorrerem entre meses a anos após a infecção.

Os serogrupos mais frequentemente implicados na URE são: Pomona e Grippothyphosa. Relatos esporádicos tem associado os serogrupos Autumnalis, Icterohaemorrhagiae, Australis, Sejroe, e Javanica à URE (Gilger & Deeg, 2011). Apesar da associação entre a URE e a leptospirose, é importante salientar que a maioria das exposições à *Leptospira* não resultam em uveíte (Hines, 2007). Na Europa, pensa-se que a maioria dos casos de URE seja induzida por *Leptospira* (Spiess, 2010) e todos os cavalos que desenvolvem sinais de uveíte poderão desenvolver URE, até vários anos após a uveíte primária. O papel exato da *Leptospira* nas recidivas não é totalmente conhecido, no entanto, a presença de leptospirosas, de fragmentos ou do seu ADN, aumenta a probabilidade do desenvolvimento de doença autoimune (Gilger & Deeg, 2011).

Apesar da leptospirose estar associada à URE em muitos cavalos, outras etiologias (bacterianas, virais, protozoárias, parasitárias e não infecciosas) têm sido associadas a este síndrome (Gilger & Deeg, 2011). O envolvimento viral foi teorizado mas nunca foi demonstrado; suspeitou-se que as microfilárias de *Onchocerca cervicalis* poderiam desempenhar um papel na etiologia da URE mas, atualmente, pensa-se que só exceccionalmente (Spiess, 2010).

Algumas raças, como a Appaloosa, têm risco mais elevado de desenvolver URE, enquanto outras (raças de trote atrelado) apresentam um menor risco para desenvolver a doença.

Adicionalmente, a doença nos animais de raça Appaloosa parece ser clinicamente distinta, com um curso muito insidioso, sendo necessária mais pesquisa para aprofundar a etiopatogenia desta síndrome nesta raça. Dada a elevada incidência da doença em cavalos desta raça é provável que esta também tenha uma base genética. Neste caso suspeita-se que o sistema MHC equino possa condicionar a suscetibilidade (Gilger & Deeg, 2011), já que a URE está fortemente associada ao MHC de classe I haplótipo ELA-A9 numa população de cavalos *warmblood*¹ alemães (Deeg, Marti, Gaillard & Kaspers, 2004).

Recentemente um estudo de associação pangenômico com 144 cavalos, dos quais 79 com URE, identificou polimorfismos de nucleótido único, no cromossoma 20, em regiões vizinhas aos genes IL-17A e IL-17F. Foi também identificado um polimorfismo de nucleótido único no cromossoma 18 perto do grupo de genes do cristalino CRYGA-CRYGF. Estes resultados indicam um componente genético que regula o possível papel crítico da IL-17A e da IL-17F na patogénese da URE, explicando a variância fenotípica da doença. É possível que o polimorfismo identificado no cromossoma 18 seja um indicativo da formação de cataratas na URE (Kulbrock, Lehner, Metzger, Ohnesorge, & Distl, 2013).

A URE é muito provavelmente uma doença imunomediada com múltiplas causas, mas que resulta de reações de hipersensibilidade retardada com intervalos variáveis (Spiess, 2010), sendo a sua fisiopatologia é bastante mais complexa do que uma simples infeção sistémica ou um incidente traumático. Estudos em humanos, animais domésticos e de laboratório demonstraram que a inflamação intraocular recorrente mostra uma origem multifatorial, fortemente condicionada pela genética individual e pela componente imunomediada. Estão em curso estudos que investigam os mecanismos imunes responsáveis pelo desencadear de episódios de inflamação e de destruição de tecidos, e as relações entre o complexo de histocompatibilidade principal (MHC) equino e a suscetibilidade à URE (Gilger & Deeg, 2011).

4.1 Anatomia Clínica e Patofisiologia da Uveíte Recorrente Equina

A URE é uma síndrome que envolve todas as estruturas do olho, o que significa que tecnicamente, poderá ser considerada uma panoftalmite, especialmente nos casos mais graves. Contudo, como a origem da inflamação e a maior parte das alterações iniciais têm início no trato uveal, considera-se uma panuveíte (Gilger & Deeg, 2011).

Tanto a íris como o corpo ciliar possuem um grande número de vasos sanguíneos e na face interna são revestidos por uma camada dupla de epitélio que tem um papel importante na patofisiologia da URE. Assim e uma vez que o trato uveal contém a maior parte do fornecimento de sangue do olho e está em contacto direto com a vasculatura periférica, as doenças da circulação sistémica (por exemplo, septicémias ou bacteriémias) podem afetar a circulação sanguínea uveal (Gilger & Deeg, 2011).

¹ - No âmbito desta dissertação o termo *warmblood* é utilizado para designar raças de cavalos criadas para desporto incluindo raças como o Hanoveriano, Oldenburg, Westphalian, Knabstrupper, Meio Sangue Holandês e Meio Sangue Alemão.

A barreira hemato-retiniana também limita a resposta imunitária às partes internas do olho, tornando-o um local imunologicamente privilegiado. Caso ocorra trauma ou inflamação, esta barreira pode ser perturbada, permitindo que fatores sanguíneos ou células penetrem o olho. O *flare*, a acumulação de células ou a opacidade dos humores aquoso ou vítreo são os sinais clínicos observáveis após a ruptura da barreira hemato-ocular que ocorre na URE. A alteração da barreira permite a ativação de diversas respostas imunes, incluindo a produção de anticorpos para autoantígenos que não são normalmente reconhecidos pelo sistema imunológico (Gilger & Deeg, 2011).

Uma vez que todos os tecidos uveais estão abundantemente preenchidos com vasos sanguíneos, a fisiologia da inflamação inicial envolve congestão vascular. Esta congestão provoca a dilatação dos vasos sanguíneos episclerais, resultando numa hiperémia episcleral que provoca a aparência típica de uveíte, os "olhos vermelhos". A congestão e a inflamação dos vasos uveais implicam um derrame de proteína e de fluido para os tecidos circundantes uma vez que a barreira hemato-ocular é modificada. Simultaneamente a infiltração de células mononucleares para o espaço perivascular uveal é facilitada pela permeabilidade vascular, em particular no corpo ciliar (Gilger & Deeg, 2011).

Outra característica da URE é a acumulação de exsudados não celulares adjacentes ao trato uveal. Este exsudado contribui para a disfunção do tecido uveal e hipotonia do globo uma vez que o corpo ciliar produz menos humor aquoso. Desta forma a oxigenação e a nutrição da camada fotorreceptora da retina, a partir da região coriocapilar, está diminuída. Adicionalmente, espasmos do esfíncter da íris causam miose e bloqueiam a capacidade da íris para se ajustar as condições de luz prevalentes (Gilger & Deeg, 2011).

Saliente-se que quer a úvea, quer o humor aquoso nutrem um elevado número de estruturas anatómicas no olho, sendo que a uveíte pode resultar na inflamação e/ou disfunção, em grau variável, da: córnea, esclerótica, cristalino, retina e nervo ótico (Gilger & Deeg, 2011).

A inflamação nas partes não uveais do olho depende da anatomia e da fisiologia de cada área afetada. A transparência da córnea fica comprometida quando os mediadores inflamatórios presentes no humor aquoso causam alteração da função do endotélio da córnea. A ruptura da bomba de sódio/potássio-trifosfato de adenosina (Na^+/K^+ -ATPase) endotelial que, normalmente, mantém a córnea relativamente desidratada, pode contribuir para alterações da sua opacidade. O edema da córnea resultante causa uma opacidade focal ou difusa, podendo ser generalizada. O edema pode tornar-se permanente, caso a disfunção endotelial seja severa. Um infiltrado celular corneal abundante ou uma extensa vascularização não são características primárias de URE; se estiverem presentes, o clínico deverá excluir doenças primárias da córnea, como por exemplo abscessos do estroma ou queratites imunomediadas (Gilger & Deeg, 2011).

A função da lente fica comprometida quando esta fica opacificada ou deslocada. As cataratas ocorrem quando a lente aumenta o seu conteúdo em água e eletrólitos em resposta a

alterações no humor aquoso ou adesões da úvea (sinéquias). O *uptake* normal de oxigénio para a lente é reduzido devido às alterações no humor aquoso, contribuindo para a perda da sua transparência. A luxação da lente ocorre quando as fibras zonulares, normalmente ligadas aos processos ciliares do corpo ciliar, se separam ou degeneram devido a presença crónica de mediadores inflamatórios (Gilger & Deeg, 2011).

A função da retina é perturbada se os fotorreceptores forem privados de oxigénio e de outros nutrientes normalmente fornecidos pela coriocapilar, se toxinas inflamatórias danificarem componentes celulares ou se a retina se descolar como consequência dos exsudados subretinais e infiltrados celulares que se originam da coroide interna. A função do nervo ótico é perturbada sempre que o fornecimento sanguíneo é comprometido por inflamação da coroide, enfartes, ou glaucoma secundário com resultante isquémia do nervo (Gilger & Deeg, 2011).

O humor aquoso e o vítreo podem funcionar como câmaras coletoras de células e de subprodutos da reação inflamatória, estando por isso a sua fisiologia frequentemente alterada na URE. A transparência da câmara anterior está alterada nos casos em que há acumulação de fibrina, *flare*, hifema ou hipopion. A acumulação de células inflamatórias e de subprodutos no humor aquoso pode obstruir a rede trabecular ou a região uveoscleral, resultando num glaucoma secundário. Cronicamente, o glaucoma pode ocorrer devido a sinéquias, crescimento excessivo da vascularização do ângulo iridocorneal ou fibrose do tecido uveal (Gilger & Deeg, 2011).

A transparência da parte posterior do olho pode estar alterada por derrame de células sanguíneas, macromoléculas e componentes do plasma a partir da coroide e do corpo ciliar para o humor vítreo. A infiltração de células mononucleares e de citoquinas inflamatórias pode alterar a remoção de resíduos e contribuir para a sinérese do corpo vítreo. A perda das propriedades viscoelásticas, combinada com a tração da rede de colagénio colapsada do vítreo, podem exercer tração sobre a retina deficientemente fixada e contribuir para destacamentos e perda de visão (Gilger & Deeg, 2011).

4.2 Impacto da Uveíte Recorrente Equina

As doenças oculares estão entre os problemas de saúde mais comuns nos cavalos e, destas, as inflamatórias, tais como as queratite e a URE, são as causas mais frequentes de cegueira. A prevalência de doença ocular infecciosa e imunomediada em cavalos é maior do que em qualquer outro mamífero que não o Homem. Em humanos, estas doenças inflamatórias oculares estão caracterizadas molecularmente e muitas são hereditárias ou associadas a fenótipos genéticos. No Cavalo, a situação parece ser semelhante, sendo necessária mais investigação sobre a herança genética e a suscetibilidade à URE. Devido à elevada taxa de prevalência em raças de cavalos nos Estados Unidos, o impacto económico desta doença é muito alto, especialmente, quando se consideram os efeitos da doença na interrupção dos

treinos, na diminuição da *performance*, e no afastamento de cavalos da competição (devido ao uso de medicamentos, etc.) (Gilger & Deeg, 2011).

Os cavalos com URE perdem valor comercial em resultado da perda da visão e, por vezes, ficam cegos, sendo sujeitos a eutanásia por razões práticas e económicas. Tratamentos, cuidados veterinários e custos com pessoal aumentam o impacto económico desta doença (Gilger & Deeg, 2011).

4.3 Classificação da Uveíte Equina

A síndrome de URE deve ser diferenciada da uveíte primária que é uma doença diferente do ponto de vista fisiopatológico. Qualquer causa que leve a rutura da barreira hemato-retiniana pode resultar em uveíte, no entanto, a URE é uma doença distinta, crónica e caracterizada por episódios recorrentes. Cavalos que sofram um episódio inicial de uveíte de etiologia desconhecida estão em risco de desenvolverem uveíte recorrente, só classificada como URE após dois ou mais episódios de inflamação serem observados. Se dois ou mais anos passaram sem ocorrência de um segundo episódio de uveíte, o risco de desenvolvimento de URE no cavalo é reduzido (Gilger & Deeg, 2011).

A uveíte equina é então classificada como primária ou recorrente. A uveíte recorrente é dividida em três principais síndromes clínicas: URE clássica, URE insidiosa e URE posterior (Tabela 4). Uma vez que a URE envolve frequentemente todas as áreas do trato uveal (panuveíte), a classificação anatómica humana de uveíte (anterior, intermediária, e posterior) não se aplica em cavalos (Gilger & Deeg, 2011).

Tabela 4 - Classificação clínica da uveíte equina (adaptado de Gilger & Deeg, 2011)

CLASSIFICAÇÃO		DESCRIÇÃO
Uveíte Primária		Primeiro episódio ou inflamação ocular persistente
Síndrome de Uveíte Recorrente Equina		
Classificação Clínica	Clássica Recorrente	Episódios inflamatórios ativos seguidos por períodos de inflamação ocular mínima
	Insidiosa	Inflamação intraocular persistente de baixa intensidade, sem sinais evidentes de desconforto
	Posterior	Inflamação recorrente principalmente do vítreo, retina e coroide
Estádio de Cronicidade	Ativa/ Aguda	Olho com inflamação ativa e sinais de inflamação intraocular
	Quiescente	Sem evidências clínicas de inflamação interna ativa (olho sem desconforto)
	Terminal	Olho cego, <i>phthisis bulbi</i> , catarata, luxação da lente, descolamento de retina, e/ou perda da arquitetura pupilar normal

A fase aguda da URE envolve predominantemente a inflamação da íris, do corpo ciliar e da coroide, com envolvimento simultâneo da córnea, da câmara anterior, do cristalino, da retina e do vítreo. Após períodos variáveis de tempo, a fase quiescente é geralmente interrompida por períodos de agudização com gravidade crescente. Em muitos cavalos, os episódios repetidos de inflamação causam o desenvolvimento de cataratas, aderências intraoculares, *phthisis bulbi* e perda de visão (Gilger & Deeg, 2011).

A URE insidiosa é caracterizada por uma inflamação intraocular de baixa intensidade que não se manifesta por episódios dolorosos, apesar do seu efeito destrutivo gradual que conduz à degeneração das estruturas oculares e a sinais clínicos crônicos. Este tipo de URE é mais frequentemente diagnosticado em cavalos da raça Appaloosa e cavalos de tiro (Gilger & Deeg, 2011).

Na uveíte posterior, a inflamação localiza-se predominantemente no vítreo, na retina e na coroide, embora uma ligeira inflamação do segmento anterior esteja geralmente presente. Os sinais clínicos incluem episódios de inflamação do vítreo, turvação, descolamento da retina e perda da visão. Cronicamente, estes cavalos podem desenvolver cataratas, descolamento de retina, degeneração vítrea (com ou sem cordões fibrosos) e degeneração da retina. Esta síndrome é mais comum em cavalos de sangue quente (*warmblood*), cavalos de tiro e cavalos de raças europeias (Gilger & Deeg, 2011).

A URE pode ser ainda classificada de acordo com a sua fase de cronicidade, em "ativa ou aguda," "quiescente" ou em "fase terminal". Os casos agudos ou ativos caracterizam-se pela presença de inflamação interna e de dor que se manifestam com blefarospasmo, edema ligeiro a moderado da córnea, *flare* aquoso, *aquous cells*, hipopion, hiperémia da íris, miose, hipotonia, infiltrado celular no vítreo e, possivelmente, inflamação retiniana e descolamento da retina. Os episódios quiescentes são aparentemente não dolorosos e mostram pouca inflamação interna ativa ao exame clínico. No entanto, podem apresentar sequelas de inflamação crônica, como sinéquias ou cataratas. Na fase terminal, os olhos com URE crônica mostram alterações graves e, muitas vezes, lesões que conduzem à cegueira: *phthisis bulbi*, cataratas densas, luxação da lente, descolamento de retina e/ou perda da arquitetura pupilar (Gilger & Deeg, 2011).

4.4 Aparência Clínica da Uveíte Recorrente Equina

Não é conhecida, até ao momento, uma maior predisposição para machos ou fêmeas, sendo a idade em que ocorre o episódio inicial variável (Gilger & Deeg, 2011). Num estudo com 112 cavalos que apresentavam URE metade manifestou sinais antes dos 12, idade em que muitos cavalos estão no seu pico de desempenho (Dwyer *et al.*, 1995). Como já foi referido os sinais clínicos são bastante variáveis e dependem do estágio do episódio, das alterações oculares preexistentes, da natureza da inflamação e da sua localização anatómica (Gilger & Deeg, 2011). Curiosamente, o mesmo estudo sugeriu que a URE por *Leptospira* pode ser mais

severa que as URE provocadas por outras etiologias, uma vez que os cavalos seropositivos para *Leptospira* eram 4,4 vezes mais propensos à perda de visão (Dwyer *et al.*, 1995).

4.4.1 Sinais oculares: segmento anterior

Um cavalo com um episódio agudo inflamatório apresenta blefarospasmo, dor e lacrimejamento. A gravidade dos sinais clínicos varia desde um olho ligeiramente fechado até um cavalo que não tolera qualquer manipulação das estruturas perioculares sem sedação; o blefaroedema grave pode tornar o exame ocular difícil. A córnea pode apresentar-se edemaciada, com opacidade mais evidente à periferia. A presença de um infiltrado celular (branco ou amarelo) ou a vascularização extensa da córnea não são comuns na URE, pelo que a sua observação pode sugerir doença primária da córnea. Vascularização curta, profunda e circumlimbal é frequente, sendo o comprimento dos vasos proporcional à duração do episódio. O teste da fluoresceína é negativo a menos que o cavalo apresente úlcera secundária a auto traumatismo. A câmara anterior pode parecer nebulosa devido ao flare aquoso; hipopion ou hifema podem estar presentes na câmara anterior. Precipitados queráticos podem ser visíveis como manchas brancas focais sobre o endotélio da córnea. Um sinal cardinal de uveíte ativa é a miose, sempre presente num episódio agudo, a menos que midriáticos tenham sido administrados ou que sinéquias distorçam a pupila. A íris pode apresentar uma cor esbatida, pigmentação mosqueada e fibrose. A degeneração dos *corpora nigra* com diminuição da espessura e despigmentação da margem da íris são muito características de URE e podem desenvolver-se após vários episódios inflamatórios (Figuras 6 e 7) (Gilger & Deeg, 2011).

Um cavalo com URE insidiosa não apresenta dor, mas ao exame ocular evidencia muitas vezes alterações inflamatórias sugestivas de inflamação crónica. É comum a conjuntiva e a episclera mostrarem-se hiperémicas e existir uma blefarite leve a moderada. A córnea pode

Figura 6 - Uveíte aguda, com hiperémia conjuntival, edema da íris, miose intensa (indicado pelas setas) e depósitos de fibrina na câmara anterior (extraído de Gilger & Deeg, 2011).

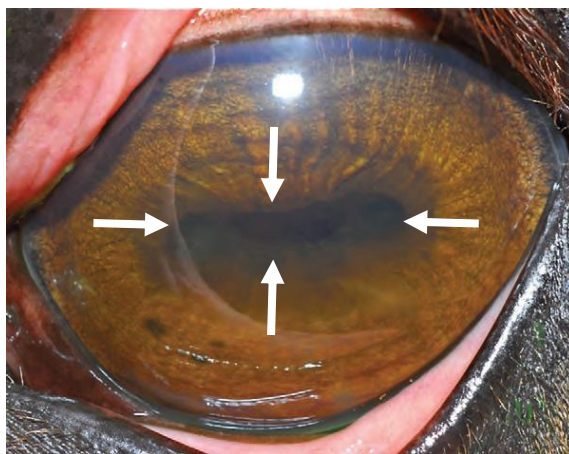
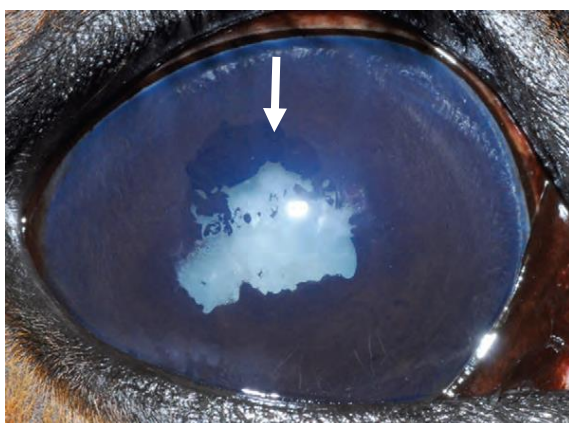


Figura 7 - Uveíte crónica com edema da córnea, sinéquias posteriores, atrofia dos *corpora nigra* (indicado pela seta), hiperpigmentação da íris e cataractas densas (extraído de Gilger & Deeg, 2011).



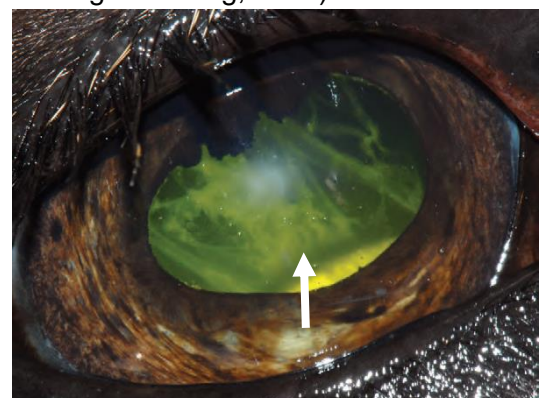
apresentar-se levemente edemaciada, baça ou nebulosa. A infiltração celular da córnea ou a sua vascularização extensa não são características da URE insidiosa, embora uma vascularização focal do limbo possa ser perceptível. O teste da fluoresceína é geralmente negativo. Um *flare* aquoso é normalmente observado com o auxílio da biomicroscopia, podendo a íris apresentar-se despigmentada ou hiperpigmentada. A degeneração do *corpora nigrans* é um sinal clínico característico da URE insidiosa, associada à atrofia e fibrose da íris. A pupila apresenta-se geralmente miótica com o reflexo à luz mais lento (Gilger & Deeg, 2011). Sequelas inflamatórias e cicatrizes no segmento anterior são muitas vezes visíveis nos casos de URE clássicos e insidiosos. Se o cavalo sofreu de uma doença da córnea anteriormente (por exemplo, úlcera da córnea), cicatrizes podem ser detetadas. Uma queratopatia com depósitos de cálcio é, ocasionalmente, observada no subepitélio corneal ou no estroma exterior, em cavalos com URE crónica. Sinéquias posteriores, depósitos de pigmento na cápsula anterior da lente e oclusão pupilar são manifestações comuns tanto na URE clássica como na URE insidiosa. Cataratas nucleares ou difusas podem estar presentes; cataratas densas podem dificultar a observação do segmento posterior, enquanto a luxação ou a subluxação da lente são observadas ocasionalmente (Gilger & Deeg, 2011).

Na maioria dos casos, olhos com uveíte aguda apresentam-se hipotensivos com uma pressão intraocular (PIO) entre 5 e 12 mm Hg, e a câmara anterior diminuída de espessura. O glaucoma é uma sequela comum a todos os tipos de URE, que são a causa mais comum de glaucoma em cavalos. Cavalos que desenvolvam glaucoma secundário apresentam concomitantemente edema corneano difuso não responsivo a medicamentos anti-inflamatórios, ou menos responsivo que em episódios anteriores. A PIO varia entre os 35 e os 80 mmHg nestes casos, não sendo raro o aumento de tamanho e o desenvolvimento de estrias córneas secundárias ao glaucoma, na URE crónica (Gilger & Deeg, 2011).

4.4.2 Sinais oculares: segmento posterior

Na URE aguda clássica ou insidiosa, o segmento posterior do olho geralmente não é visível devido à nebulosidade no segmento anterior e à miose. Quando a doença está na fase quiescente e as pupilas estão dilatadas, as sequelas crónicas da URE podem ser melhor observadas. Por outro lado, lesões no segmento posterior são mais facilmente observadas em cavalos com URE posterior porque o segmento anterior está menos alterado, sobretudo no início da doença. Com a cronicidade, no entanto, as sinéquias posteriores, as cataratas e os detritos no humor vítreo limitam a observação do segmento posterior, mesmo em

Figura 6 - Uveíte posterior: opacidades vítreas densas com descoloração amarela (indicado pela seta) (extraído de Gilger & Deeg, 2011).



casos de URE predominantemente posterior (Figuras 8 e 9). Alguns cavalos não apresentam vitrite apesar de ser possível observar cicatrizes coriorretinianas na região peripapilar ou outras evidências de degeneração da retina. Os padrões mais comuns de cicatrizes coriorretinianas são observados fora da área do tapete, perto do disco e podem apresentar-se como múltiplas pequenas áreas circulares e focais de despigmentação, com uma área central de hiperpigmentação ("*bullet-hole*") ou com áreas hipopigmentadas em forma de asa, nasais e/ou temporais ao disco ótico (lesões "*butterfly*") (Figuras 10 e 11) (Gilger & Deeg, 2011).

Em alguns cavalos que apresentam vitrite grave, a observação do fundo de olho está dificultada e o disco ótico aparece vermelho-alaranjado devido à inflamação vítrea e neblina. A sinérese vítrea é comum, assim como aglutinações em forma de fio de células mononucleares infiltrantes e produtos inflamatórios (flocos vítreos) (Figura 12). Estas opacidades parecem flutuar em resposta aos movimentos do olho. Bandas fibrinosas de tração podem ser visíveis, como estruturas brancas com pontas que irradiam a partir do perímetro do disco ótico. Descolamentos de retina podem estar presentes e aparecem como um véu transparente que obscurece o fundo. Na verdade, a URE é uma das causas mais comuns de descolamento de retina em cavalos (Gilger & Deeg, 2011).

Figura 9 – Lesões coriorretinianas - lesões "*bullet hole*" (indicado pela seta) (extraído de Gilger & Deeg, 2011).

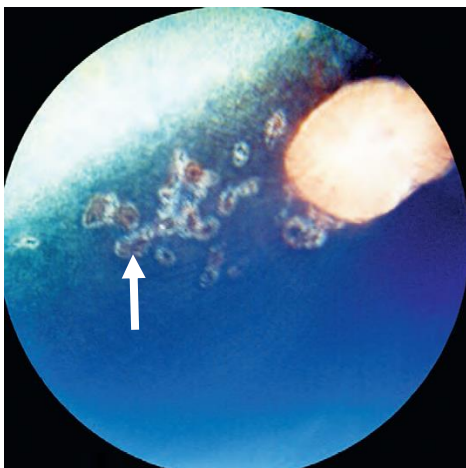


Figura 7 - Uveíte crônica: cataracta madura (indicado pela seta), hiperpigmentação da íris, degeneração dos corpora nigra e pigmento da face anterior da cápsula da lente (extraído de Gilger & Deeg, 2011).

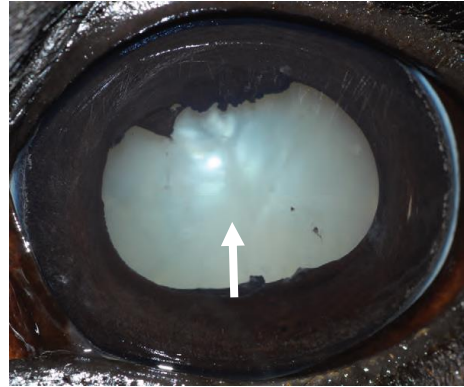


Figura 8 - Lesões coriorretinianas - lesões "*butterfly*" (indicadas pela setas) (extraído de Gilger & Deeg, 2011).

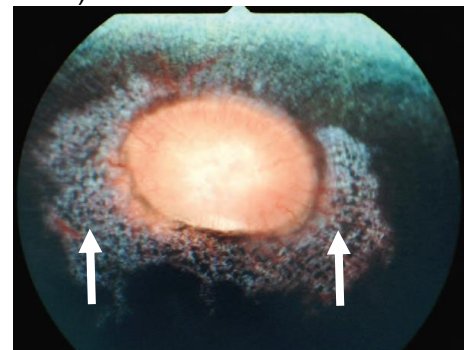
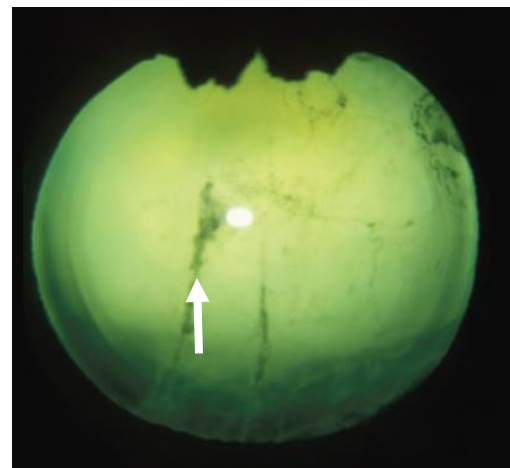


Figura 10 - Degeneração do vítreo e infiltrado celular no vítreo (indicado pela seta) (extraído de Gilger & Deeg, 2011).



4.5 URE Crónica em estadio terminal

Cavalos com URE crónica em estadio terminal apresentam graus variáveis de desconforto e de sequelas inflamatórias. Os episódios recorrentes de inflamação podem diminuir ou serem substituídos por um desconforto constante de baixo grau devido a blefarite, lacrimação mucopurulenta, conjuntivite e irritação ocular. No entanto alguns cavalos podem parecer confortáveis e sem sinais de episódios inflamatórios apesar das estruturas se tornarem, muitas vezes, severamente alteradas se os olhos sofrerem *phthisis bulbi*. Nestes casos, as cicatrizes da córnea podem ser densas e dar origem a sinéquias anteriores; a arquitetura da íris pode estar perdida ou indistinta. As cataratas e as luxações da lente são comuns, e a lente pode tornar-se amarela. O descolamento completo da retina é também comum. Na URE crónica as membranas nictitantes podem tornar-se elevadas e prolapsar à medida que o globo diminui de tamanho, e a mucosa mostrar sinais de inflamação crónica. A inclinação da cabeça (*head tilt*) ou a postura "olhando as estrelas" é por vezes observada em cavalos cegos com URE (Gilger & Deeg, 2011).

4.5.1 Envolvimento bilateral versus unilateral

O episódio inicial de uveíte pode ser bilateral ou unilateral, tal como os episódios recorrentes. Por vezes, um olho sofre inflamação inicial, e o outro só inflama num episódio posterior, sendo a inflamação de apenas um olho comum. Num cavalo que teve uma uveíte recorrente unilateral durante dois ou mais anos, sem inflamação do olho contra lateral a hipótese do segundo olho desenvolver URE é muito reduzida. A maioria dos casos de URE insidiosa são bilaterais, mas um olho pode estar mais afetado do que o outro (Gilger & Deeg, 2011).

Um estudo relatou que em aproximadamente 50% dos casos avaliados com URE induzida por leptospirose, os dois olhos estavam afetados e 81% dos cavalos da raça Appaloosa tinham envolvimento bilateral. Num pequeno grupo de 32 cavalos que eram seronegativos para *L. interrogans* serogrupo Pomona e pertencentes a outras raças que não Appaloosa, apenas 38% tinham envolvimento bilateral (referido por Gilger & Deeg, 2011). Numa revisão recente de 186 casos de URE que receberam um implante de ciclosporina, apenas 16% apresentaram doença bilateral (referido por Gilger & Deeg, 2011).

4.6 Características Imunológicas da URE

A patogenia da URE é imunomediada, e embora a etiologia da URE esteja ainda em discussão, existe consenso de que é uma resposta imunitária desregulada que está na origem da doença. Isto explica a recorrência da inflamação, o efeito positivo dos corticosteróides (ou outros agentes imunossupressores) e o insuficiente sucesso dos antibióticos. Os corticosteróides são a terapêutica de escolha, e uma terapêutica local mais direcionada para as células T (ciclosporina intraocular) tem demonstrado grande eficácia no controlo das recidivas (Gilger & Deeg, 2011).

4.6.1 Características Gerais da Imunologia Ocular e URE

Fisiologicamente, o interior do olho é desprovido de células do sistema imunitário, sendo o ambiente imunossupressor mantido por fatores expressos no vítreo, tal como o fator de crescimento transformante β (TGF- β). Há bastante tempo que se reconhece que o olho é um órgão imuno-privilegiado devido: à barreira hemato-ocular, à ausência de vasos linfáticos e à presença de um número limitado de leucócitos residentes. A barreira hemato-ocular é formada por um endotélio especializado com *tight junctions* que controlam finamente a passagem de células. As células T naive não conseguem atravessar a barreira hemato-retiniana normal, devido a pressão hidrostática nos vasos da retina e à falta de moléculas de adesão apropriadas. Adicionalmente, as barreiras hemato-retinianas (interior e exterior) impedem a entrada das células no interior do olho saudável. Uma vez que a retina do Cavalo é extensamente avascular, é a barreira hemato-retiniana exterior que mantém o ambiente isento de células imunitárias efectoras nos equídeos (Gilger & Deeg, 2011).

Na URE, quantidades consideráveis de leucócitos são capazes de penetrar no olho e causar danos aos tecidos. A análise das células infiltrantes revelou que a maioria são linfócitos predominantemente, células T CD4⁺ que secretam citocinas pró-inflamatórias, tais como a IL-2 e o IFN- γ . A população produtora de IFN- γ é denominada T_H1 *helper cell* e é importante na ativação de outras células do sistema imune, na modulação das classes dos anticorpos produzidos pelas células B, na ativação e no crescimento das células T citotóxicas e, na maximização da atividade dos macrófagos. É esta diversidade de funções que justifica o nome das células T *helper*. Recentemente, este tipo de célula T_H1 produtora de IFN- γ foi considerado a principal via de patogenicidade das doenças autoimunes (Gilger & Deeg, 2011). As células T_H17 são uma subpopulação recentemente identificada de células T *helper* CD4⁺ produtoras de IL-17 (Amadi-Obi *et al.*, 2007), encontradas nas interfaces ambiente externo/ambiente interno, como a pele e o revestimento do aparelho gastrointestinal. A IL-17 está envolvida na indução e na modulação de respostas pró-inflamatórias, induzindo a produção de outras citocinas, quimiocinas e prostaglandinas. Os linfócitos T_H17 estão implicados numa extensa variedade de doenças como, por exemplo, na artrite reumatoide; e na doença de Behçet, as quais podem estar associadas a uveíte. É interessante notar que, enquanto a linha T_H17 recruta um infiltrado inflamatório granulocítico para o olho, a linha T_H1 recruta um infiltrado predominantemente mononuclear (Amadi-Obi *et al.*, 2007; Caspi, 2010). Até ao momento, não se conhece qual a percentagem de casos de URE que é causada por células T_H17, mas um estudo realizado por Regan *et al.* (2012) detetou forte imunoreactividade para IL-6, IL-17 e IL-23. Estes resultados, em conjunto com o facto de os linfócitos T serem as células inflamatórias predominantes na URE, sugere que as células T_H secretoras de IL-17 possam desempenhar um papel importante na doença.

4.6.2 Autoantígenios e URE

A uveíte é uma doença clinicamente heterogênea. Embora os principais antígenios que funcionam como *triggers* da uveíte autoimune estejam ainda em discussão, há uma grande quantidade de evidências que implicam a resposta aos antígenios da retina na etiologia e/ou a progressão da doença. Uma das explicações que têm sido propostas para a heterogeneidade clínica dos casos uveíte é a diferença entre os antígenios reconhecidos (Gilger & Deeg, 2011). Muitos casos de URE têm respostas imunológicas detetáveis contra antígenios da retina, na maioria dos casos contra a proteína interfotoreceptora ligante ao retinóide (IRBP) (Deeg, *et al.*, 2001). A IRBP é uma glicoproteína de grandes dimensões (140 kDa) que liga os fotorreceptores e encontra-se principalmente na matriz da retina entre o epitélio pigmentar da retina e as células fotorrecetoras. Pensa-se que transporta retinóides entre o epitélio pigmentado da retina e os fotorreceptores, um papel crítico no processo visual. Além desta proteína, as reações imunológicas de cavalos com a doença são ainda dirigidas contra o antígeno S (S-Ag), uma proteína fotorreceptora encontrado nos bastonetes e na glândula pineal. Em quase todos os casos de URE são detetáveis no soro e no vítreo anticorpos contra estes dois autoantígenios. Uma vez que os anticorpos antiretinais não parecem ser essenciais para a indução da uveíte e os infiltrados predominantes são de células T_H, esta especificidade das células T é ainda mais interessante. A vitrectomia, como um procedimento terapêutico, permite a obtenção de um número suficiente de células infiltrantes do vítreo para estudos imunológicos e para comparação das reações dos linfócitos periféricos e intraoculares (Gilger & Deeg, 2011).

Ainda que os linfócitos derivados do sangue periférico não proliferem após a estimulação *in vitro* com antígenios retinais, as células da retina responderam fortemente (Deeg *et al.*, 2001). Na maioria dos casos, uma resposta exuberante a um ou mais peptídeos derivados da IRBP foi observada. Estes resultados estão em concordância com outras doenças autoimunes, em que as respostas aos autoantígenios são raramente observadas nos linfócitos periféricos. Apenas em alguns pacientes ou em determinadas fases da doença os linfócitos do sangue periférico respondem aos autoantígenios. A baixa concentração dos linfócitos periféricos específicos para os autoantígenios no sangue, mesmo em casos avançados de uveíte, tem sido apontada como uma razão para os maus resultados nos ensaios de imuno proliferação (Gilger & Deeg, 2011).

Uma análise mais cuidada do padrão da resposta imune na URE revelou um novo autoantígeno responsável pela uveíte. Uma resposta imune exacerbada à proteína celular de ligação do retinaldeído (cRALBP) foi detetável numa grande percentagem dos casos de URE (Deeg *et al.*, 2006). Cinquenta e quatro por cento dos pacientes humanos testados para autoanticorpos contra cRALBP foram igualmente positivos (Deeg *et al.*, 2006, Deeg, *et al.*, 2007). Esta proteína é abundante nas células pigmentares da retina, onde muitas das reações

do ciclo visual ocorrem nos bastonetes e nas células Mueller, que têm sido implicadas na regeneração do pigmento visual dos cones (Gilger & Deeg, 2011).

Estudos anteriores haviam demonstrado que a uveíte experimental induzida em porquinhos-da-Índia, com proteínas solúveis da retina, também levou ao envolvimento da glândula pineal no processo inflamatório (Kalsow & Wacker, 1978). As glândulas pineais foram infiltradas por linfócitos antes do envolvimento da retina. Curiosamente, áreas septais da glândula pineal dos cavalos com uveíte apresentavam aglomerações de células apresentadoras de antígenos de MHC classe II e linfócitos T (Kalsow, Dwyer, Smith & Nifong, 1993; Kalsow, Dubielzig & Dwyer, 1999).

4.6.3 Patogénese da doença recorrente

Os conceitos atuais para explicar a origem e a perpetuação das doenças autoimunes incluem mimetismo molecular, ativação “*bystander*” e ativação por disseminação de epitopos. Estes mecanismos não se excluem entre si, podendo surgir juntos e até mesmo interligados. A disseminação de epitopos é definida como uma diversificação da especificidade dos epitopos e da resposta imunitária específica focada no epitopo inicial (dominante), direcionada contra epitopos ocultos dessa proteína (disseminação intramolecular) ou outras proteínas (disseminação intermolecular) (Gilger & Deeg, 2011).

Na maioria das doenças autoimunes, vários autoantígenos participam na patogénese e a disseminação de epitopos é responsável pela indução, progressão e recaída inflamatória. Estas mudanças na imunorreatividade poderão explicar o carácter recidivante da URE; diferentes antígenos-alvo poderão ser importantes num determinado indivíduo, dependendo do seu MHC. O fundo genético e os antígenos encontrados influenciam a direção e extensão de reatividade contra os epitopos e, provavelmente, desempenham um papel importante nas manifestações clínicas heterogêneas de doença. Suspeita-se, que em muitas doenças autoimunes, a disseminação de epitopos ocorra inicialmente como resultado de uma resposta imunitária contra antígenos endógenos e, secundariamente, à libertação de autoantígenos durante a resposta autoimune crónica. A formação de novos anticorpos pode determinar um quadro clínico diferente; por exemplo, a transformação de uma uveíte anterior numa uveíte posterior pode ser um excelente exemplo dos efeitos da disseminação de epitopos. Devido a danos nos tecidos, os epitopos crípticos ou ocultos na mesma molécula serão subitamente apresentados ao sistema imune. O resultado final é que cada antígeno alvo geralmente contém vários epítapos, cada um dos quais reage com uma subpopulação de linfócitos T e leva à produção de anticorpos com diferente especificidade e afinidade. Assim, a disseminação de epitopos em doenças autoimunes resulta na deteção de um crescente número de autoanticorpos. Estudos que caracterizam o “shifting” da resposta imune em cavalos com URE estão em curso e alguns trabalhos apontam para a disseminação de epitopos numa alta percentagem dos casos (Gilger & Deeg, 2011).

Análises da especificidade de autoantígenos e de epítomos das células T em casos de URE já revelaram evidências da disseminação de epítomos inter e intramoleculares. Surpreendentemente, o antígeno S que é visto como o principal autoantígeno na uveíte autoimune humana e que é usado para induzir experimentalmente uveíte em ratos Lewis, não parece induzir uveíte em cavalos. A uveíte induzida pelo antígeno S em ratos é monofásica e também foi monofásica num cavalo que desenvolveu uveíte após injeção intraocular do antígeno S. Em contrapartida, o cRALBP e o IRBP demonstram boa capacidade para induzir uveíte no cavalo, com uma incidência de 100%. A uveíte equina experimental induzida com cRALBP ou IRBP é o único modelo animal em que as recidivas da doença autoimune podem ser induzidas de uma forma bem definida e previsível (Deeg *et al.*, 2006).

Ao exame histopatológico, os olhos com URE e os olhos com uveíte induzida experimentalmente revelaram uma perda quase completa dos segmentos externos dos fotorreceptores em estádios avançados da doença. Uma vez que estes segmentos externos têm dois autoantígenos principais, o antígeno retinal S e o IRBP, a persistência da patologia imunológica após a destruição dos locais de expressão destas proteínas era difícil de explicar. A quantidade inalterada dos dois autoantígenos da retina indica que a proteína alvo autoantigénica está presente, apesar da destruição considerável dos fotorreceptores, podendo assim, provocar novas inflamações em pacientes com olhos já cegos (Gilger & Deeg, 2011).

4.6.4 Proteínas diferencialmente reguladas na URE

Embora tenha sido demonstrado que as células T_H1 específicas para autoantígenos da retina regulam a progressão da URE e as recaídas, os processos moleculares que conduzem à degeneração da retina, e consequente cegueira, permanecem desconhecidos. A exploração dos proteomas intraoculares na uveíte espontânea e em controlos saudáveis tornou possível a identificação das várias proteínas diferencialmente reguladas que pertencem às vias envolvidas na resposta imune e na manutenção da barreira hemato-retiniana (Gilger & Deeg, 2011).

Uma proteína da retina sobreexpressa na URE é o componente do complemento C3. Dados recentes indicam que ocorre ativação do sistema do complemento sérico na URE (Zipplies *et al.*, 2009). Este resultado é interessante, porque a ativação do complemento intraocular, especificamente do recetor de complemento 3, teve um impacto significativo sobre a evolução da uveíte autoimune experimental em ratos. Outro candidato é o Fator Derivado do Epitélio Pigmentar (PEDF), um fator neurotrófico e um potente inibidor da angiogénese. O PEDF é produzido pelas células epiteliais pigmentares e pelas células de Mueller, encontrando-se subexpresso na uveíte, até cerca de 20% da expressão normal. O PEDF funciona como um regulador de fatores inflamatórios e reduz a permeabilidade endotelial através da proteção das *tight junctions*. Na URE foi demonstrada a associação entre a regulação negativa do PEDF e o aparecimento concomitante do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e

do IFN- γ na retina. Adicionalmente, as retinas com uveíte mostraram sobreexpressão da proteína fibrilar glial ácida (GFAP) e da vimentina, bem como uma subexpressão da glutamina sintetase. Estes padrões de expressão apontam para um estado ativado das células gliais de Mueller durante a doença (Deeg, 2008).

Por outro lado também as células de Mueller poderão desempenhar um papel decisivo na progressão da doença por regularem diretamente os processos de inflamação, através da expressão e secreção de IFN- γ (Gilger & Deeg, 2011).

Infelizmente os acontecimentos imunopatológicos que desencadeiam a URE permanecem pouco claros. Em muitas doenças autoimunes, as infecções têm sido apontadas como os principais acontecimentos desencadeadores, quer por mimetismo antigénico, quer por ativação “bystander”, devido à estimulação geral sistémica ou imune local (Gilger & Deeg, 2011).

4.6.5 Leptospirose e URE

A associação histórica entre a leptospirose e o desenvolvimento de URE sugere que a *Leptospira* é um poderoso ativador da imunopatologia nesta doença (Gilger & Deeg, 2011). No Cavalo, foram detetadas leptospirosas no humor vítreo e aquoso, em casos de URE (Faber et al., 2000), que podem ter decorrido de uma infeção generalizada (Rocha, 2004).

A patogenia da inflamação induzida por *Leptospira* na URE ainda não foi totalmente elucidada, apesar da intensa pesquisa que esta área tem conhecido. Contudo, há evidências de que tanto a infeção persistente, como os mecanismos autoimunes, podem ter um papel importante na patogenia da URE. A presença de leptospirosas no globo ocular pode causar lesão direta, que induz uma resposta imune local ou promover uma reação autoimune indireta. Os estudos que investigaram a resposta celular e a produção de citocinas durante a leptospirose apoiam o papel dos mecanismos imuno mediados na patogenia da URE, em particular, uma resposta de hipersensibilidade retardada (Hines, 2007).

Em 1985, médicos da Universidade da Flórida utilizaram o ELISA para quantificar de anticorpos anti- *L. interrogans* serogrupo Pomona no soro, humor aquoso e humor vítreo de cavalos com URE. Os dados obtidos sugerem que os anticorpos podem ser sintetizados no olho, em vez de simplesmente atravessarem a barreira hemato-ocular. A análise das amostras de humor aquoso e vítreo dos cavalos apoia o conceito de que alguns animais com URE sintetizam anticorpos anti-*Leptospira* intraocularmente (Gilger & Deeg, 2011).

Também em 1985, investigadores argentinos demonstraram uma relação antigénica entre *Leptospira* e a córnea equina, sugerindo que um mimetismo molecular pode ocorrer entre as bactérias e os tecidos infetados. Os cavalos infetados por *L. interrogans* produzem anticorpos que reagem com a córnea e com a lente para além de reconhecerem a parede de leptospirosas (Parma, Santisteban, Villalba, & Bowden, 1985). Trabalhos posteriores demonstraram que as lágrimas e o humor aquoso de cavalos inoculados com *Leptospira* contêm anticorpos que se ligam à córnea. Adicionalmente, cavalos inoculados com leptospirosas mortas ou extrato de

córnea desenvolvem anticorpos com reatividade cruzada e opacidade da córnea (Parma, *et al.*, 1985; Parma, Fernandez, Santisteban, Bowden, & Cerone, 1987). Especificamente, uma proteína com 90 kDa de *Leptospira* foi identificada como partilhando antigenicidade com uma proteína com 66 kDa da córnea equina (Lucchesi & Parma, 1999). Esta proteína de *Leptospira* responsável pelo mimetismo parece estar presente em vários serovares de *L. interrogans sensu stricto*, mas não está presente na saprófita *L. biflexa sensu stricto* ou na *L. borgpetersenii* serovar Tarassovis estirpe Perepelicin que é patogénica, mas que não foi associada à URE (Lucchesi, Parma & Arroyo, 2002). Desta feita foi levantada a hipótese da infeção persistente não ser necessária para induzir a inflamação ocular imuno mediada, uma vez que qualquer libertação de citocinas pró-inflamatórias poderá reativar as células T de memória que reconhecem com os antígenos oculares (Hines, 2007; Braga *et al.*, 2010).

Adicionalmente, tanto no humor aquoso como no humor vítreo dos equinos com uveíte, os níveis das IgA e IgG anti-lipoproteínas LruA e LruB de *L. interrogans* estavam significativamente mais altos do que no soro, indicando que ocorre produção de anticorpos intraocularmente. Os antissoros específicos para LruA e LruB reagiram de forma cruzada com a lente, o corpo ciliar e a retina equina, o que sugere um papel imunopatogénico na URE induzida por *Leptospira* (Verma, Artiushin, Matsunaga, Haake & Timoney, 2005; Verma, Kumar, Babb, Timoney & Stevenson, 2010). Nos humanos, quer a uveíte associada a leptospirose quer a uveíte autoimune (uveíte de Fuchs ou síndrome de Behçet), apresentam anticorpos séricos reagem de forma cruzada com as lipoproteínas LruA e LruB, o que sugere fortes semelhanças com a patogénese da URE (Verma *et al.*, 2008; Verma *et al.*, 2010). Recentemente, Verma *et al.* (2012) identificaram uma nova lipoproteína (LruC) cujos níveis de anticorpos específicos estavam significativamente mais elevados nos fluidos oculares e soros de cavalos com uveíte. Estes resultados sugerem que também a LruC pode desempenhar um papel na uveíte induzida por leptospirose, confirmando que as infeções por *Leptospira* são potentes iniciadores de doenças autoimunes no olho, através de um mecanismo de "mimetismo molecular" (Gilger & Deeg, 2011).

Em resumo, as fortes evidências da presença de anticorpos anti-*Leptospira* no globo ocular e de mimetismo molecular entre fragmentos de ADN de *Leptospira* e a córnea/lente equina, suportam uma componente autoimune da doença, tal como, a existência de seroreactividade antiretinal em cavalos que apresentam URE induzida por *Leptospira*. A presença de MHC classe II e a acumulação de Ig em células residentes e infiltradas nos olhos e nas glândulas pineais destes cavalos sugere que a leptospirose pode modular a resposta imune do olho. Uma vez que a doença tem uma patogenia imunitária, é provável que a estrutura genética do indivíduo (MHC) tenha uma função importante na determinação da suscetibilidade à leptospirose como estímulo iniciador e/ou na gravidade dos episódios inflamatórios subsequentes. Um cenário temporal provável é: o processo inflamatório e a uveíte são iniciados, possivelmente, por infeção com *Leptospira* (ou outra doença ocular), com perda

generalizada da tolerância imunológica ocular; neste ambiente, as células apresentadoras de antígenos ativadas apresentam autoantígenos ao sistema imunológico adaptativo podendo ocorrer uma reação cruzada entre os agentes infecciosos e os autoantígenos; quando ocorre reatividade cruzada e os autoantígenos são reconhecidos e processados, o epítipo é processado pelos endossomos citoplasmáticos para, finalmente, ser apresentado às células T; a clivagem dos autoantígenos pode criar novos epítopos, quer através de novas conformações, quer pelo realinhamento das sequências proteicas; este fenómeno pode levar à disseminação intramolecular de epítopos, levando a que anticorpos específicos possam ligar-se a corpos apoptóticos ou a outros autoantígenos similares produzidos ou reconhecidos durante os processos inflamatórios, levando ao *uptake* destes pelas células apresentadoras de antígeno ativadas e a nova amplificação da resposta inflamatória (disseminação intermolecular de epítopos). Esta amplificação da resposta inflamatória, a estes novos epítopos, provavelmente explica a natureza recorrente da inflamação característica da URE (Gilger & Deeg, 2011).

4.7 Patologia da URE

4.7.1 *Úvea anterior*

A patologia inicial da URE envolve congestão dos vasos da úvea anterior e a infiltração da úvea por células inflamatórias. A íris e o corpo ciliar são infiltrados, inicialmente, por neutrófilos que podem também invadir a câmara anterior provocando hipópion, sendo substituídos rapidamente por um grande número de linfócitos, bem como por algumas células do plasma e macrófagos. Também podem estar presentes exsudados de fibrina, de proteínas do soro ou de outras substâncias. Ao exame macroscópico/histopatológico, os globos oculares na fase aguda da URE apresentam exsudados na superfície da íris, do corpo ciliar, dos processos ciliares e sobre a cápsula da lente. Os exsudados serosos e celulares são também observados no estroma da íris, na malha trabecular e nos humores aquoso e vítreo. Quer a congestão, quer a inflamação ocorrem em simultâneo na conjuntiva, enquanto a retina permanece inalterada durante os primeiros episódios de inflamação (Gilger & Deeg, 2011).

Com a cronicidade e a recorrência, a organização do infiltrado linfocitário torna-se evidente. O corpo ciliar e a base da íris apresentam frequentemente nódulos linfocitários proeminentes, preenchidos no centro por linfócitos B e na periferia por linfócitos T. Estes nódulos podem explicar as recidivas, uma vez que células imunologicamente ativadas permanecem no interior do olho após o primeiro episódio de uveíte. Embora as células T sejam predominantes na URE, são também detetáveis autoanticorpos no soro e nos tecidos oculares, que podem ser usados na deteção da especificidade dos autoantígenos (Gilger & Deeg, 2011).

Devido à progressão das lesões, o epitélio dos processos ciliares e a parede dos vasos uveais aumentam de espessura. Os exsudados na úvea são facilmente observáveis nos processos ciliares e no epitélio posterior da íris. Na URE o exame histopatológico do corpo ciliar mostra

três aspectos característicos: a presença de uma espessa membrana hialina firmemente aderente à face interna do epitélio ciliar não pigmentado; inclusões lineares eosinófilas no citoplasma deste epitélio; e uma acumulação de agregados de linfócitos e de células plasmáticas neste epitélio, na íris posterior e no corpo ciliar (Gilger & Deeg, 2011).

4.7.2 Úvea posterior

Ainda que na fase aguda da URE a patologia seja predominantemente na úvea anterior, a recorrência e a cronicidade da inflamação conduz a alterações da retina e da coroide adjacente. São observados focos dispersos de linfócitos T, particularmente perto do *ora ciliaris* de retina e do disco ótico, e o epitélio pigmentar da retina pode sofrer hipertrofia focal ou degeneração. A presença de transudado serofibrinoso entre o epitélio pigmentar da retina e os fotorreceptores pode ser tão extensa que poderá substituir parte do humor vítreo. Posteriormente pode ocorrer a perda de bastonetes e de cones devido à atividade macrofagocítica e aos descolamentos da retina, com o epitélio pigmentar da retina ligado à membrana da coroide de Bruch e o resto da retina colapsada na câmara posterior (Gilger & Deeg, 2011).

As lesões observadas junto ao disco ótico, na URE, incluem a presença de um infiltrado superficial, a formação ocasional de nódulos linfocíticos e de pregas de tração da retina junto ao nervo ótico. As células infiltrantes do espaço perivascular e do parênquima do nervo são imuno-reativas, podendo o nervo ótico apresentar tumefação, escavação ou atrofia se o glaucoma secundário estiver presente (Gilger & Deeg, 2011).

4.7.3 Estruturas acessórias

A lente apresenta exsudados espessos aderentes à cápsula, frequentemente na face posterior, durante a fase inicial da URE. A cápsula da lente prolifera e ao longo do tempo desenvolvem-se cataratas. Desta forma a luxação da lente é comum à medida que a deterioração das zónulas ocorre e que o enrugamento da cápsula da lente (secundária a uma catarata hipermadura e reabsorvente) ou que a metaplasia óssea ocorrem (Gilger & Deeg, 2011).

Em muitas URE desenvolve-se vascularização perilimbal da córnea, embora a vascularização superficial e extensa não seja característica da doença. O exame histológico mostra que os novos vasos surgem como pequenas ramificações capilares a partir de vasos da esclera, que crescem em direção à lâmina própria sob o epitélio da córnea, e que podem estar presentes apenas no limbo inferior ou estender-se a toda a periferia num padrão radial. O infiltrado celular raramente está presente no estroma da córnea em cavalos com URE, mas se for proeminente, então a uveíte pode ter como causa uma doença da córnea primária, como um abscesso do estroma ou uma queratite imunomediada (Gilger & Deeg, 2011).

Vários estudos têm mostrado que a URE é acompanhada por uma inflamação na glândula pineal, que pode ser variável e transitória. Esta inflamação envolve a infiltração de células

imunes ativadas e é semelhante à observada na indução experimental da doença em animais de laboratório (Gilger & Deeg, 2011).

Os episódios agudos de URE são seguidos por períodos de quiescência em que o olho está aparentemente saudável, e em que as evidências da doença estão restritas às sequelas de episódios anteriores (sinéquias, catarata, cicatrizes peripapilares) e, ocasionalmente, a um subtil “*flare*” aquoso. A imunohistopatologia de olhos em quiescência revela que a inflamação persiste microscopicamente; nódulos linfocíticos estão frequentemente presentes no corpo ciliar e linfócitos infiltrantes são identificáveis no estroma uveal e em muitas estruturas acessórias do olho. A imunorreactividade também é detetável durante os períodos de quiescência (Gilger & Deeg, 2011).

Muitos casos de URE crónica desenvolvem “*phthisis bulbi*”. Noutros, mantém-se o tamanho normal do globo, mas existem sinéquias posteriores extensas, com perda da forma e da mobilidade normal da íris e cataratas densas. O exame histológico em fase terminal (cegueira) mostra um globo contraído, com cataratas, sinéquias anteriores e posteriores, em que a esclera está aumentada de espessura e a íris distorcida. A lente pode estar luxada anteriormente e rodeada por exsudados espessos. Os vasos da íris apresentam paredes com espessura aumentada e o corpo ciliar está preenchido com exsudados organizados. A retina está descolada e a câmara posterior pode estar preenchida por exsudado. Em alguns casos a estrutura ocular funcional pode estar conservada com sequelas inflamatórias reduzidas (Gilger & Deeg, 2011).

4.8 Diagnóstico Diferencial e Métodos de Diagnóstico

O diagnóstico clínico da URE é baseado na presença de sinais clínicos característicos e na história documentada de recorrência ou, no caso da URE insidiosa, de episódios persistentes de uveíte (Spiess, 2010). Ambas as características são indispensáveis para o diagnóstico clínico de URE, especialmente para diferenciar a uveíte primária e outras causas de inflamação ou nebulosidade ocular recorrente ou persistente (queratite por herpesvirus, queratite imunomediada, glaucoma e abscessos do estroma). Estas e muitas outras patologias primárias do olho resultam em sinais clínicos oculares típicos de URE, como dor, blefarospasmo, fotofobia, miose e alteração da transparência da córnea (Gilger & Deeg, 2011).

Se o olho apresenta sinais clínicos compatíveis com uveíte, é fundamental que o clínico faça a diferenciação entre uveíte primária e uveíte recorrente, pois são duas doenças distintas (Gilger & Deeg, 2011). Na Europa Central é prudente considerar qualquer uveíte equina como uma hipotética URE até que se prove o contrário. Outras causas de uveíte incluem trauma, iridociclite, coriorretinite por septicémia ou por infeção umbilical (em poldros) e neoplasmas multicêntricos (Spiess, 2010).

É também particularmente importante diferenciar uma doença primária da córnea da URE. Por outro lado, a queratite infecciosa profunda não ulcerada (abscessos do estroma), como a que está associada a infecções fúngicas, é frequentemente confundida com a URE, uma vez que os abscessos aumentam e diminuem de intensidade e estão associados a dor severa, a “flare” aquoso, a miose, a edema da córnea e a hipópion. O tratamento da queratite infecciosa com corticosteróides tópicos, um tratamento comum na URE, pode resultar num agravamento substancial do abscesso. Assim, o uso de corticosteróides tópicos está contraindicado para a maioria dos problemas de córnea primários e, ao falhar no tratamento de úlceras e de outros problemas da córnea (úlceras, corpos estranhos, abscessos do estroma, queratites, glaucomas, neoplasias da córnea), pode ter consequências desastrosas (Gilger & Deeg, 2011).

Um exame ocular completo é necessário, com a inspeção cuidadosa das pálpebras e da córnea para descartar doenças primárias desta. Se o edema conjuntival e palpebral obstruir a córnea, o exame pode repetir-se após a terapêutica com fármacos anti-inflamatórios não esteroides para reduzir a dor e o inchaço. A inspeção cuidadosa de todas as estruturas anatómicas acessórias do olho, procurando detetar massas, alterações de pigmentação, cicatrizes, opacidades, acumulação de fluídos e alterações do fundo de olho, principalmente na região peripapilar, facilita o diagnóstico diferencial. O médico deve realizar um exame oftalmológico completo aos dois olhos, mesmo que apenas um deles apresente inflamação ativa. A tonometria é recomendada para exclusão do glaucoma ou documentar a hipotonia que muitas vezes acompanha a URE. O exame oftalmológico completo é também importante nos olhos confortáveis (ou seja, em quiescência) de forma a documentar os sinais clínicos compatíveis com uveítes anteriores (sinéquias, depósitos de pigmento na cápsula anterior, cataratas difusas, cicatrizes peripapilares, etc.) (Gilger & Deeg, 2011).

Deve ser efetuada uma história detalhada dos episódios anteriores de inflamação, incluindo a descrição dos sinais observados pelo proprietário. Se o proprietário relatar episódios breves ou prolongados de dor ocular ou de edema, o cenário é fortemente sugestivo de URE. No entanto, se o proprietário relatar que o cavalo não teve qualquer inflamação ocular anteriormente ou que não conhece a história do animal, este poderá apresentar a forma insidiosa de URE (especialmente em cavalos da raça Appaloosa ou de tiro). É ainda possível que apresente URE clássica, mas que os episódios não tenham sido testemunhados pelo proprietário. Nos casos em que a história é totalmente desconhecida, mas há suspeita de uveíte recorrente, é necessária a observação cumulativa de pelo menos três sinais de doença (atrofia dos *corpora nigra*, pigmento na face anterior da cápsula da lente, sinéquias, fibrose ou mudança de cor da íris, catarata, luxação ou subluxação da lente, opacidade vítrea, descolamento de retina ou bandas de tração, cicatrizes peripapilares num padrão focal ou alar) antes de se fazer um diagnóstico presuntivo de URE (Gilger & Deeg, 2011).

Outros exames que devem ser realizados na avaliação do cavalo com uveíte aguda primária ou URE incluem o hemograma e as análises bioquímicas do sangue. A serologia para *Leptospira* poderá ser útil na avaliação da exposição prévia a um fator de risco bem conhecido, mas pode ser pouco útil para a prescrição do tratamento. No entanto é de salientar que a realização das serologias do humor aquoso e do soro em conjunto para *Leptospira* (títulos de aglutinação microscópica) em simultâneo podem ser úteis, porque um rácio entre o valor TAM do humor aquoso e o valor TAM do soro indica a existência de produção intraocular de anticorpos contra a *Leptospira*, condicionando o tratamento. Os melhores laboratórios de diagnóstico podem realizar TAM para cinco a sete serogrupos (Pomona, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Canicola, Hardjo, e, por vezes, Bratislava e Autumnalis). De salientar que a interpretação da serologia para leptospirose pode ser confusa; um grande número de cavalos que vive em climas temperados ou tropicais apresenta títulos baixos de um ou mais serogrupos. Por outro lado a reatividade cruzada a um ou mais serogrupos é comum, devido à sobreposição de antígenos de superfície. Ao longo do tempo, o título para o serogrupo predominante desce, mas seroreactividade positiva para o epítipo antígeno persiste durante anos e, provavelmente, para a vida. Normalmente, os títulos do serogrupo predominante vão estar mais elevados do que os dos serogrupos de reação cruzada durante os primeiros anos após a infeção. A reatividade ao serovar Pomona é frequentemente cruzada à seroreactividade para o serovar Icterohaemorrhagiae. Tem sido demonstrado que o cavalo pode ser um hospedeiro adaptado ao serogrupo Bratislava e, até à data, este serogrupo não tem sido associado com a URE (Gilger & Deeg, 2011).

A tipificação do antígeno dos leucócitos equinos (ELA) também pode ajudar a determinar se o animal é geneticamente suscetível à URE. A análise parasitológica nas fezes está indicada, bem como um exame físico completo de outros sistemas para investigar problemas concomitantes (Gilger & Deeg, 2011).

O aconselhamento e a educação dos proprietários é importante sempre que sinais de URE são detetados durante um exame oftalmológico de rotina. O proprietário deve ser instruído sobre esta síndrome, através uma discussão franca acerca do prognóstico visual. É melhor destacar antecipadamente possíveis cenários e preparar os proprietários para a despesa, exigências do tratamento e futuras recorrências, recomendando exames de acompanhamento. Nos casos em que o veterinário suspeita de URE insidiosa ou clássica o exame bienal conjuntamente com avaliação imediata, caso o cavalo sofra de dor uni ou bilateral, deverá auxiliar o diagnóstico e o tratamento. O encaminhamento para um oftalmologista veterinário credenciado pode ser útil para proporcionar um exame completo nos casos de etiologia incerta (Gilger & Deeg, 2011).

4.9 Prognóstico dos animais com URE

4.9.1 Sequelas inflamatórias na URE

Os dados sobre a evolução da URE e as suas sequelas oculares são poucos. O prognóstico visual em 112 casos de URE que foram seguidos por um período de 7 anos no estado de Nova York foram revistos e as consequências na visão, as alterações oculares crônicas e os problemas médicos concomitantes num grupo de 160 casos (incluindo os 112 casos originais) foram acompanhados durante 11 anos. Os cavalos foram divididos por raça e por seropositividade para *L. interrogans* serogrupo Pomona. Do total de 160 cavalos, 20% (n=32) não tinham nenhum fator de risco conhecido para URE (seronegativos e não pertencentes à raça Appaloosa). Dos restantes 128 cavalos, 86 foram seropositivos para *Leptospira* e pertenciam a outras raças que não a Appaloosa, 28 eram de raça Appaloosa com uveíte insidiosa, e os restantes 14 cavalos eram Appaloosa e seropositivos para *L. Pomona*. As sequelas oculares mais comuns foram cicatrizes corneanas focais, depósitos de cálcio e outras opacidades. Os cavalos seropositivos para *Leptospira* mostraram uma alta taxa de queratopatia em banda com calcificação. As estrias corneanas e as faixas densas foram comuns nos Appaloosa, que evoluía para cegueira. A atrofia da íris e a sua mudança de cor também foram comuns, especialmente nos Appaloosa e em cavalos seropositivos. Sinéquias anteriores foram raras, a menos que estivesse presente *phthisis bulbi*, mas sinéquias posteriores ocorreram num terço de todos os casos e em 40% dos cavalos de raça Appaloosas. Cataratas difusas foram diagnosticadas em 41% de todos os casos e em quase três quartos dos Appaloosa; tendo sido uma causa comum de cegueira. A luxação da lente foi comum em Appaloosas (29%). A opacidade vítrea grave (vitrite) foi observada em cerca de um terço dos casos e as cicatrizes peripapilares (focais ou alares) também estiveram presentes em cerca de um terço dos cavalos. As cataratas e as sinéquias dificultaram, frequentemente, a avaliação do segmento posterior, logo, as alterações inflamatórias foram subdescritas. Os Appaloosas tiveram a maior taxa de glaucoma (21%), enquanto a *phthisis bulbi* desenvolveu-se na maioria das vezes em Appaloosas e em cavalos seropositivos para *Leptospira* (Dwyer et al.,1995).

Apesar dos proprietários estarem frequentemente preocupados que os cavalos com URE tenham de ser enucleados, no conjunto descrito apenas 4% (6/160) foram enucleados por complicações da córnea ou glaucoma. Mais preocupante é o facto de 43 dos 160 cavalos (27%) terem sido tratados para úlceras da córnea durante o período de observação. Assim, o risco de úlceras corneanas em cavalos com URE deve ser salientado, uma vez que os proprietários costumam medicar cavalos com olhos dolorosos e podem acidentalmente potenciar infeções graves pela aplicação de corticosteróides e atrasar o diagnóstico correto. Adicionalmente, neste estudo, 10 cavalos desenvolveram queratopatia em banda com calcificação (Gilger & Deeg, 2011).

4.9.2 Prognóstico visual da URE

Os sinais apresentados, a resposta ao tratamento, a taxa de recorrência da URE são altamente variáveis e provavelmente estão relacionados com uma variedade de fatores ambientais, genéticos e imunológicos e com estímulos que induzem a doença (Gilger & Deeg, 2011).

O prognóstico relativo à manutenção da visão em cavalos com uveíte tem sido descrito como mau, apesar dos dados serem limitados. Num estudo em Nova Iorque, a cegueira completa foi observada em 20% (32/160) de todos os cavalos seguidos a longo prazo e a cegueira unilateral ocorreu em 36% (57/160), tendo 56% do total dos casos resultado em cegueira em um ou ambos os olhos (estudo referido por Gilger & Deeg, 2011).

Os cavalos de raça Appaloosa e os cavalos seropositivos para *Leptospira* mostraram um risco aumentado de cegueira; perda completa de visão em pelo menos um olho e 50% tornaram-se completamente cegos. Os cavalos de raça Appaloosa que nunca tinham sido expostos a *L. Pomona* e que sofreram doença insidiosa apresentaram um prognóstico um pouco melhor: a taxa de perda de visão em um ou em ambos os olhos foi de 72%, com 29% apresentando cegueira total. Dos cavalos que tinham sido expostos a *L. Pomona*, mas não eram de raça Appaloosa, 49% perderam a visão em um ou ambos os olhos e 17% apresentavam cegueira total. Os cavalos que eram seronegativos para *L. Pomona* e não pertenciam à raça Appaloosa tiveram um prognóstico visual mais favorável: 34% ficou cego em um ou ambos os olhos, tendo a cegueira total ocorrido em apenas 6% (Gilger & Deeg, 2011).

4.10 Controlo da URE

Os principais objetivos da terapêutica na URE são: preservar a visão; reduzir e controlar a inflamação ocular para limitar danos permanentes; controlar a dor e prevenir as recidivas (Gilger & Deeg, 2011).

Nos cavalos em que a etiologia foi identificada, o tratamento é direcionado para eliminar o problema primário e são realizados os testes iniciais para isolar um agente causal. No entanto, devido à patogenia imunomediada da URE, a causa primária pode não ser identificada e, nesses casos, a terapêutica é dirigida ao tratamento dos sintomas e à redução da inflamação ocular (Gilger & Deeg, 2011).

4.10.1 Medidas práticas e de alterações de manejo para diminuir a URE

As práticas que diminuem as lesões oculares ou minimizam os estímulos inflamatórios podem reduzir ou eliminar o desenvolvimento de episódios recorrentes na URE. Pode ser possível eliminar estímulos ambientais (alérgenos, antigénios, etc.) alterando o local de pasto do cavalo, as espécies companheiras, aumentando o controlo de pragas, diminuir a exposição ao sol ou mudando o tipo de cama. O trauma ocular pode também ser reduzido pela eliminação de arestas cortantes, de pregos e ganchos do estábulo, tapando alças expostas

em baldes de alimentação e de água, removendo galhos de árvores no pasto, minimizando o tempo de transporte em reboque e implementando o uso de uma máscara anti-mosca de boa qualidade. Assegurar bons cuidados com os cascos, um bom plano anti-helmíntico e uma dieta adequada também ajuda a reduzir episódios de uveíte, por minimizar a ocorrência de doenças infecciosas e promover a saúde sistêmica (Gilger & Deeg, 2011).

Alguns relatos circunstanciais sugerem que a vacinação com vacinas multivalentes ou que a administração de diferentes vacinas individuais no mesmo dia pode estar associada a uma recaída na inflamação ocular. Por esta razão, recomenda-se que os cavalos com URE sejam vacinados em pelo menos duas sessões espaçadas, com um intervalo de uma semana ou mais. Adicionalmente, o pré-tratamento com um AINE sistêmico, 24 horas antes e no momento da vacinação, pode evitar uma recaída. O veterinário deve determinar as vacinas apropriadas, a via e a frequência de administração dos produtos (Gilger & Deeg, 2011).

4.10.2 Vacinação de cavalos contra a leptospirose

A vacinação de cavalos com uma bacterina de *Leptospira* tem sido proposta como uma medida preventiva válida. Estão disponíveis comercialmente várias vacinas bovinas que contêm bacterinas dos serogrupos patogênicos de *Leptospira*, mas não existe nenhuma vacina equina aprovada e todas as vacinas comerciais estão rotuladas para uso exclusivo nas espécies bovina ou suína. Como já foi referido, a URE tem uma forte componente imuno mediada e a extensa homologia molecular entre os tecidos oculares equinos e proteínas de *Leptospira*, não permite antever se a vacinação poderá exacerbar a resposta imune ou precipitar a inflamação (Gilger & Deeg, 2011). Aparentemente os cavalos montam uma resposta do tipo humoral após a vacinação (Hines, 2007). Empírica e ocasionalmente, a vacinação tem sido utilizada em quintas com historial de aborto e de uveíte por *Leptospira*, mas não há dados controlados que suportem a sua eficácia (Hines, 2007); na realidade, sinais de uveíte aguda foram observadas após a administração da vacina, em alguns cavalos que não tinham exposição conhecida às bactérias (Gilger & Deeg, 2011). Num estudo recente, 41 cavalos com URE foram vacinados com uma vacina contendo 6 serovares de *Leptospira* (20 cavalos) ou um placebo (21 cavalos). Embora a vacina tenha aumentado o período entre episódios, falhou em atrasar a progressão da doença (Rohrbach, Ward, Hendrix, Cawrse-Foss & Moyers, 2005). Uma vez que a vacina não funciona como terapêutica adjuvante no tratamento de URE, deverá ser administrada para prevenir a leptospirose sistêmica que precede a invasão ocular por *Leptospira* (Brandes *et al.*, 2007).

A vacinação pode ser considerada em regiões de risco acrescido, que tiveram casos de URE no passado, assumindo que o médico e proprietário do cavalo discutem os riscos e os benefícios da vacinação, e que consentimento escrito do proprietário é obtido. A administração da vacina deve ser limitada a cavalos seronegativos para *L. interrogans* e sem alterações oculares. Esta abordagem conservadora parece ter reduzido a incidência de novos casos de URE em locais de risco e, até à data, não resultou em qualquer inflamação ocular

que tenha sido associada a este protocolo vacinal (Gilger & Deeg, 2011). Há estudos em curso para o desenvolvimento de novas vacinas, tais como vacinas de ADN que expressem a proteína I associada à hemolisina. Potencialmente algumas destas vacinas poderão oferecer proteção cruzada (Hines, 2007; Silva *et al.*, 2007; Murray *et al.*, 2012).

4.11 Terapêutica Médica para a URE

Visto que a perda da visão é uma consequência comum a longo prazo na URE, o tratamento inicial deve ser o mais agressivo possível. Os dois principais objetivos da terapêutica são reduzir o desconforto, através de midriáticos cicloplégicos (por exemplo, atropina tópica), e reduzir a inflamação, com medicamentos sistémicos (por exemplo, corticosteróides e AINEs). A atropina tópica a 1% é geralmente suficiente para se obter o efeito de dilatação da pupila. Se o efeito pretendido não é alcançado, a aplicação tópica de cloridrato de fenilefrina tópica a 10%, a cada 6 horas e durante 24 a 48 horas pode ajudar a obter o efeito de midríase. A fenilefrina é um alfa agonista, mas tem poucos efeitos midriáticos e cicloplégicos em cavalos e, quando utilizada em combinação com a atropina tópica, pode melhorar ligeiramente o efeito midriático em relação ao observado apenas com a atropina. Uma resposta fraca aos midriáticos, em geral, sugere que a inflamação intraocular é grave e, por conseguinte, é necessário fazer um controlo da inflamação para permitir que os midriáticos funcionem. Aumentar a frequência da atropina (por exemplo, intervalos inferiores a 6 horas) ou aumentar a sua concentração (por exemplo, 2% a 4%), raramente indicado, e pode predispor o cavalo a cólica (Gilger & Deeg, 2011).

Os corticosteróides tópicos são usados para diminuir a inflamação, sendo o acetato de prednisolona a 1% e o cloridrato de dexametasona a 0,1% os mais vulgarmente utilizados. Ambos têm excelente penetração ocular, e a frequência do tratamento varia de acordo com a gravidade da doença, desde uma administração diária até uma vez por hora. De salientar que os corticosteróides tópicos têm efeitos secundários, incluindo a capacidade de potenciar infeções e as collagenases (“*melting*” corneano), retardar a epitelização de úlceras da córnea e, possivelmente, favorecer a queratopatia em banda com calcificação (Gilger & Deeg, 2011). Os AINEs tópicos (por exemplo, flurbiprofeno a 0,03%, bromofenac de sódio a 0,09% ou diclofenac de sódio a 0,1%) também podem ser usados, sendo a sua principal vantagem a o facto de não potenciarem infeções, embora atrasem a epitelização das úlceras corneanas. Apesar de o bromofenac ser um AINE muito potente relativamente aos demais citados, o seu efeito anti-inflamatório é muito inferior ao da dexametasona e da prednisolona tópicas (Gilger & Deeg, 2011).

A terapêutica sistémica é a mais eficaz no controlo da URE e a flunixinina meglumina por via oral, intramuscular ou endovenosa, é um dos medicamentos anti-inflamatórios mais potentes no olho; a fenilbutazona e a aspirina são muito menos eficazes. A prednisolona ou a dexametasona sistémicas são também eficazes mas, em geral, são apenas recomendadas

em casos graves que não respondem a outros medicamentos anti-inflamatórios (Gilger & Deeg, 2011).

A terapêutica inicial é instituída por um período de, pelo menos, 1 a 2 semanas e deve ser gradualmente reduzida ao longo de um período de 2 semanas após o desaparecimento dos sinais clínicos. A redução progressiva da medicação é muito importante para evitar recidivas. Os proprietários devem ser alertados para este perigo e avisados para não interromperem a medicação, mesmo com a resolução dos sinais clínicos. Em casos graves de URE, injeções locais subconjuntivais de corticosteróides podem estar indicadas como adjuvantes da terapêutica; o esteróide mais utilizado por via subconjuntival é o acetonido de triamcinolona (em geral 2 mg, 0,2 mL de solução a 10 mg/mL). Estas injeções proporcionam efeito terapêutico durante 7 a 10 dias, e não resultam em granuloma ou formação de abscessos que outros esteroides podem provocar. No entanto, uma vez que injetado o tratamento não pode ser interrompido. A presença crónica de corticosteróides pode atrasar a cicatrização das úlceras da córnea e predispor o olho a queratite fúngica, pelo que as injeções subconjuntivais de corticosteróides devem ser equacionadas com cautela (Gilger & Deeg, 2011).

4.11.1 Resposta ao tratamento médico

A resposta ao tratamento na URE é variável e difícil de prever. Os episódios agudos de inflamação podem durar alguns dias ou várias semanas. Algumas recorrências são leves e respondem rapidamente a um tratamento simples (midriáticos, corticosteróides tópicos e AINEs sistémicos), enquanto outros episódios são graves e altamente refratários ao tratamento. Episódios subsequentes de inflamação podem não responder ao tratamento da mesma forma que o episódio inicial. Se uma recidiva de uveíte não responder à terapêutica como em episódios anteriores e a córnea estiver edematosa, pode ter-se desenvolvido glaucoma secundário que deve ser diagnosticado e monitorizado por tonometria (Gilger & Deeg, 2011).

A maioria dos oftalmologistas veterinários concorda que o prognóstico da URE, a longo prazo, com terapêutica médica é mau. Mesmo a terapêutica agressiva é muitas vezes insuficiente na prevenção da recorrência de episódios dolorosos e dano intraocular cumulativo, o que origina frequentemente *phthisis bulbi*, glaucoma ou perda de visão resultante de cataratas ou de descolamento da retina (Spiess, 2010).

4.11.2 Terapêuticas antibióticas para URE

Os tratamentos tradicionais usados na URE (corticosteróides, midriáticos e AINEs) são destinados a reduzir a inflamação e minimizar danos oculares permanentes em cada episódio ativo e, provavelmente, não são eficazes na prevenção de recorrências. Outros medicamentos usados para prevenir ou diminuir a gravidade de episódios recorrentes, tais como a aspirina, a fenilbutazona e vários tratamentos à base de plantas, têm eficácia limitada e possíveis

efeitos prejudiciais sobre os sistemas gastrointestinal e hematológico quando utilizados de forma crônica no Cavalo (Gilger & Deeg, 2011).

No entanto, recentemente surgiram vários relatos do uso benéfico de antibióticos como tratamento primário da URE (Gilger & Deeg, 2011). Tendo em conta as evidências de infecção persistente por *Leptospira* em cavalos com URE, uma terapêutica antibiótica agressiva pode ser indicada (Hines, 2007). Em casos de suspeita de infecção por *Leptospira* (por exemplo, um elevado título de anticorpos no soro ou no fluido ocular), um tratamento de 4 semanas com doxiciclina oral (12 mg/kg PO a cada 12 horas) ou enrofloxacin (7,5 mg/kg PO a cada 24 horas) é indicado para minimizar ou eliminar episódios recorrentes de uveíte. Pensa-se que estas terapêuticas podem matar os organismos residuais responsáveis pelos episódios de uveíte recorrente (Gilger & Deeg, 2011). Num estudo, a administração oral de doxiciclina falhou em atingir a concentração terapêutica nos humores aquoso ou vítreo em cavalos sem a doença (Gilmour et al., 2005). Num estudo em 2006, a administração de 20 mg/kg, por via oral, uma vez ao dia, permitiu atingir concentrações terapêuticas no humor aquoso, mas um cavalo desenvolveu complicações fatais, pelo que o uso de altas doses deve ser bem avaliado (Davis, Salmon & Papich, 2006). Num estudo publicado em 2008, Divers, Irby, Mohammed e Schhwark determinaram que a administração sistêmica de enrofloxacin (7,5 mg/kg, IV, q24h) proporcionou níveis terapêuticos para *L. interrogans* serovar Pomona no humor aquoso. A enrofloxacin é portanto um fármaco a considerar caso se suspeite de uveíte associada a *Leptospira*.

A injeção de 4 mg de gentamicina na cavidade vítrea foi também descrita para a eliminação de episódios recorrentes de uveíte em casos de URE induzida por *Leptospira*. No entanto, a eficácia deste tratamento não foi ainda comprovada, e o modo de ação, as complicações e os resultados a longo prazo não foram ainda caracterizados. Até mais estudos serem realizados é recomendado que estes tratamentos sejam usados com cautela e apenas em último recurso. Se o proprietário manifestar interesse em experimentar medicinas alternativas (acupuntura e terapêuticas holísticas), deve-se salientar que o seu uso deverá ser acompanhando com medicamentos tradicionais (Gilger & Deeg, 2011).

4.12 Tratamento cirúrgico de URE

4.12.1 Dispositivos supracoroidais de libertação prolongada de ciclosporina

Os dispositivos de libertação lenta oculares ou implantes têm muitas vantagens relativamente aos métodos mais tradicionais. Essas vantagens incluem a manutenção de níveis terapêuticos diretamente no local de ação, ultrapassando as barreiras hemato-oculares e eliminando o efeito da *compliance* do proprietário no sucesso da terapêutica. Outra vantagem deste método é o facto de ser mais conveniente para o paciente, reduzindo o risco envolvido nas injeções intravítreas frequentes (Gilger & Deeg, 2011).

A ciclosporina A (CsA), um péptido cíclico de 1,2 kD que bloqueia a transcrição de IL-2 e a capacidade de resposta das células T, pode ser o fármaco ideal para bloquear a ativação dos linfócitos T e a recorrência da uveíte. Contudo a CsA é hidrofóbica, não penetrando o globo ocular quando aplicada topicamente e o tratamento sistémico pode provocar efeitos secundários graves, incluindo insuficiência renal, hepática e toxicidade neurológica. A CsA é também muito dispendiosa quando administrada como terapêutica sistémica no Cavalo. Um dispositivo de libertação lenta de CsA revestido com álcool polivinílico e silicone, previamente testado em coelhos foi avaliado em cavalos. Este dispositivo foi implantado no vítreo de cavalos saudáveis, permanecendo lá um ano, sem desencadear inflamação ocular ou outras complicações. Em equinos com uveíte induzida experimentalmente, a CsA diminuiu a duração e gravidade da inflamação, da infiltração celular, da destruição tecidual e do nível de transcrição de citocinas pró-inflamatórias (Gilger & Deeg, 2011). Num estudo com dispositivos de CsA, cavalos com recorrência frequente de uveíte sem alterações oculares foram selecionados para receber o dispositivo. Embora o dispositivo tenha impedido o desenvolvimento de episódios recorrentes em 81% dos cavalos, foram notadas complicações pós-cirúrgicas que incluíram hemorragia intraocular, progressão das cataratas, e descolamento da retina. Pensa-se que a intervenção cirúrgica em olhos fragilizados com URE favoreça as complicações observadas (Gilger, Wilkie, Davidson, & Allen, 2001). De forma a eliminar estas complicações, foram avaliados métodos menos invasivos para a libertação prolongada de ciclosporina. Foi desenvolvido um dispositivo para o espaço supracoroidal e permitir a libertação prolongada no corpo ciliar. Vários ensaios mostraram que os cavalos com inflamação ativa não controlável por medicamentos anti-inflamatórios, não são bons candidatos para implantação de CsA porque esta tem fracas propriedades anti-inflamatórias, e os olhos com inflamação ativa são propensos a complicações pós-cirúrgicas. O controlo prévio da inflamação ocular com medicamentos anti-inflamatórios tradicionais é fundamental para o sucesso desta técnica. Por outro lado, a evidência de formação de cataratas ou de glaucoma tornam o animal um mau candidato para a cirurgia (Gilger & Deeg, 2011). Os resultados obtidos sugerem que níveis oculares terapêuticos de CsA ocorrem cerca de 30 a 45 dias após a colocação do implante. Se ocorrerem recidivas, é recomendado o tratamento tradicional com AINEs sistémicos, corticóides tópicos e atropina. Aproximadamente 25% dos cavalos apresentam episódios recorrentes após o implante mas, subjetivamente, parece ser necessária menos medicação para controlar a inflamação ativa e a duração dos episódios inflamatórios é menor. Os resultados também sugerem que a colocação do implante não está associada a quaisquer complicações que ponham em risco a visão, como o descolamento de retina. A duração da libertação do medicamento é de aproximadamente de 36 meses (Gilger & Deeg, 2011). Num estudo de 2006, o número de recaídas foi reduzido significativamente após a cirurgia (Gilger *et al.*, 2006). Noutro estudo de 2010, foram avaliados 186 olhos de 156 cavalos que

tinham dispositivos CsA implantados (dados de seis centros nos Estados Unidos e dois na Europa). O acompanhamento médio foi de 29 meses (entre 1 a 7 anos). Os cavalos com implantes apresentaram significativamente menos recidivas após a cirurgia (média de 0,05 recaídas/mês). No total, 79,9% dos olhos mantiveram a capacidade visual até ao último *follow-up*, e apenas três necessitaram da repetição do implante, 4 ou mais anos após o primeiro implante. Estes dados sugerem que a colocação do dispositivo supracoroidal de CsA teve resultados excelentes a longo prazo (Gilger *et al.*, 2010). Uma vez que as recidivas não aumentaram após a depleção do implante (cerca de 3 anos), é possível que as células T auto-reativas possam ter ficado anérgicas por ação desta, evitando a recorrência da doença mesmo após o esgotamento do fármaco (Gilger & Deeg, 2011). Este dispositivo ainda não está disponível comercialmente e ensaios clínicos adicionais estão a ser realizados com vista a otimizar a sua aplicação.

Outros fármacos imunossuppressores poderão também ser aplicados em dispositivos semelhantes, tais como o tacrolimus ou a rapamicina. A injeção intravítrea de rapamicina foi bem tolerada em cavalos saudáveis, estando em curso um ensaio clínico para a sua utilização em cavalos com URE, com a esperança de que uma única injeção de libertação lenta de rapamicina possa induzir a anergia das células T (Gilger & Deeg, 2011).

4.12.2 Vitrectomia via Pars Plana

Há mais de 25 anos que a vitrectomia via pars plana (VPP) é usada no tratamento da uveíte crónica em humanos (Spiess, 2010). Este procedimento cirúrgico foi inicialmente otimizado no modelo experimental de uveíte em coelhos. Werry e Gerhards introduziram a VPP em cavalos em 1989, com o objetivo principal de melhorar a visão, clarificar os meios refringentes e remover as membranas (Gerhard *et al.*, 1999; Spiess, 2010). No entanto, verificou-se que este procedimento também diminuiu a gravidade e a frequência das recidivas de uveíte. Há evidências de que a VPP também tem um efeito benéfico no curso clínico da uveíte posterior crónica, possivelmente, pela remoção física das células inflamatórias existentes no humor vítreo. Apesar das complicações relatadas na sequência da VPP, a maioria dos pacientes puderam alterar a rigorosa medicação peri-operatória para colírios simples ou para ausência total de tratamento (Spiess, 2010).

Desta forma a VPP tem sido usada no tratamento da URE, sobretudo na Europa. Tal como nos humanos, as complicações mais comuns em cavalos são: hipópion transitório, hemorragia vítrea ou retiniana, descolamento de retina e formação de cataratas (Spiess, 2010), sendo a taxa de complicações de 2% (Tóth, Hollerrieder & Huskamp, 2006). A remoção do vítreo alterado, contendo células inflamatórias activadas, mediadores da inflamação e bactérias, parece ser a razão da eficácia da vitrectomia nos cavalos (Gerhards *et al.*, 1999).

Embora a URE seja a principal indicação para a realização de vitrectomia no Cavalo, esta cirurgia pode ser realizada em animais com globos hipotensos ou glaucoma, flocos vítreos, sobretudo se estes causarem distração ou forem de grandes dimensões (Tóth *et al.*, 2006).

4.12.2.1 Seleção do paciente

Devido às possíveis complicações da VPP, a seleção dos pacientes é de grande importância. Estudos recentes sugerem que os pacientes com amostras de humor aquoso ou vítreo positivas para *Leptospira* devem ser considerados para vitrectomia e que os cavalos com amostras negativas devem receber outra terapêutica (Tömördy, Hässig & Spiess, 2010). Todos os pacientes são examinados através de biomicroscopia, oftalmoscopia direta e indireta e tonometria digital ou de aplanção. A ultrassonografia é realizada nos casos em que há opacidades nos meios refringentes que impeçam o exame ocular completo. O diagnóstico de URE deve ser confirmado e devem existir sinais característicos de uveíte aguda ou crônica e uma história documentada de episódios recorrentes de uveíte. Os cavalos com opacidades vítreas densas podem beneficiar adicionalmente da vitrectomia, não só pela diminuição de episódios recorrentes que experimentam, mas também pela melhoria da visão que resulta da remoção de detritos vítreos. Idealmente, os cavalos devem ser operados na fase de quiescência da doença. Devido à necessidade da visualização transpupilar da sonda de vitrectomia durante o procedimento, os meios refringentes do olho devem estar tão transparentes quanto possível. A pupila deve estar dilatada ao máximo com poucas ou nenhuma sinéquias posteriores. As cataratas focais preexistentes tendem a evoluir após a VPP e isto deve ser levado em consideração na seleção dos pacientes. Em pacientes com glaucoma secundário, *phthisis bulbi* ou descolamento da retina preexistente a VPP não está recomendada. Os proprietários devem ser cuidadosamente informados sobre a cirurgia bem como sobre as possíveis complicações intra e pós-operatórias (Spiess, 2010).

4.12.2.2 Medicação pré e pós-operatória

A administração tópica de gotas de dexametasona a 0,1%, em combinação com neomicina e polimixina B quatro vezes ao dia, deve começar uma semana antes da cirurgia. AINEs sistêmicos (como flunixinina meglumina) devem ser administrados diariamente, a começar 3 dias antes da cirurgia. A pupila pode ser dilatada com gotas de atropina a 1%, no dia da cirurgia. No pós-operatório, a combinação de dexametasona/neomicina/polimixina B em colírio tópico é administrada três vezes por dia, durante 2 semanas, sendo posteriormente reduzida ao longo de 4 semanas. Os AINEs sistêmicos são continuados por uma semana (Spiess, 2010).

4.12.2.3 Técnica Cirúrgica

A VPP de duas portas *standard* deve ser realizada com o animal em decúbito lateral, sob anestesia geral e o olho é preparado para cirurgia intraocular (Spiess, 2010). O anestésico recomendado é o isoflurano, sendo a posição central do globo ocular assegurada pela administração de atracúrio (K. Hopster, comunicação pessoal, Janeiro 11, 2013).

Depois de preparado o campo cirúrgico, um blefarostato é inserido; uma cantotomia lateral pode melhorar a exposição do globo, mas, normalmente, não é necessária. É realizada uma sutura de ancoragem na posição das 12 horas para a manipulação do globo. Um *flap* conjuntival com base no limbo, é preparado, e a esclera é exposta medial e lateralmente ao músculo recto dorsal. Utilizando um laser de CO₂, uma primeira esclerotomia a 10 mm posteriormente ao limbo é realizada. Um cirurgião dextro colocará esta primeira entrada à esquerda do músculo recto, utilizando um dilatador lacrimal duplo para ampliar as esclerotomias, caso seja necessário. A porta de irrigação é inserida e a sua platina fixada à esclerótica com duas suturas (4-0 poliglactina 910) (Figuras 13 e 14).

Com a unidade de vitrectomia no modo de irrigação contínua e a garrafa contendo líquido posicionada a 85 centímetros acima do local da cirurgia, a pressão intraocular será cerca de 40 mm de Hg. Uma solução salina com 40 mg de gentamicina adicionados a 500 mL é usada como fluido de irrigação. Uma segunda esclerotomia é depois realizada, 10 mm atrás do limbo e à direita do músculo recto. A sonda de vitrectomia é inserida cuidadosamente e empurrada em direção à área central do vítreo. Caso seja necessário, a esclerotomia pode ser ampliada com um dilatador lacrimal. Ambas as esclerotomias devem ser suficientemente estreitas para evitar o vazamento de fluido de irrigação, o que tornaria a manutenção da PIO difícil. A sonda de vitrectomia deve ser mantida com um ângulo aproximado de 70 graus e na direção do nervo ótico, tendo cuidado para não tocar na lente ao inserir a sonda, enquanto a ponta da sonda deve ser mantida com a abertura de aspiração para lado do cirurgião (Figura

Figura 11 - Suturas de fixação da porta de irrigação e da sonda de vitrectomia (imagem gentilmente cedida pela Clínica de Equinos, da Faculdade de Medicina Veterinária, Hannover).

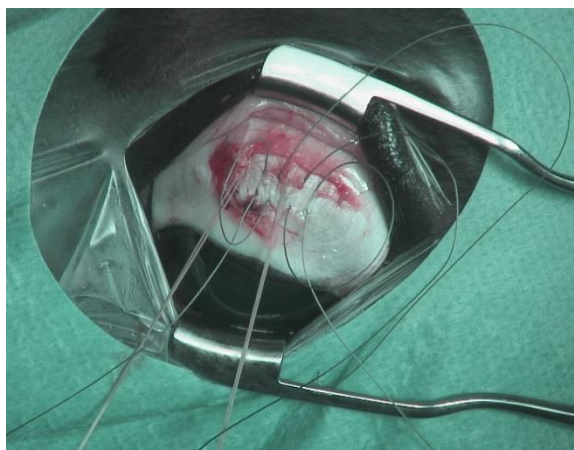
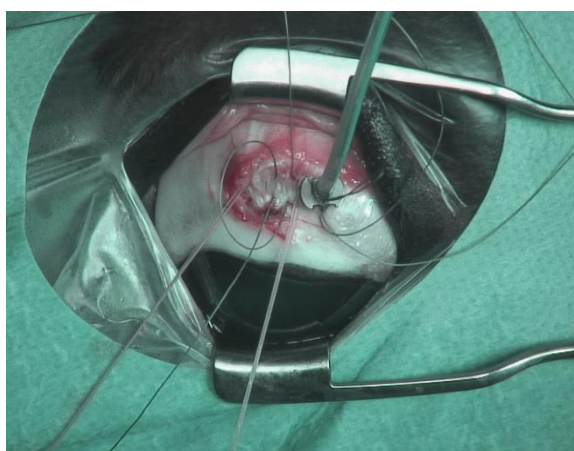


Figura 12 - Porta de irrigação com a platina fixada à esclerótica (imagem gentilmente cedida pela Clínica de Equinos, da Faculdade de Medicina Veterinária, Hannover).



15). Estimar a distância entre a sonda e a sua sombra, sobre a retina, vai ajudar o cirurgião a evitar tocar na retina (Gilger & Deeg, 2011). As porções central e anterior do humor vítreo podem ser removidas por visualização direta através da pupila dilatada, ao passo que a oftalmoscopia indireta com uma lente de 20 dioptrias é utilizada para observar as partes posterior e periférica do vítreo. Alternativamente, uma lente de contacto feita à medida pode ser utilizada na visualização do segmento posterior por meio de um microscópio cirúrgico. A aspiração do vítreo pode ser facilmente observada, especialmente

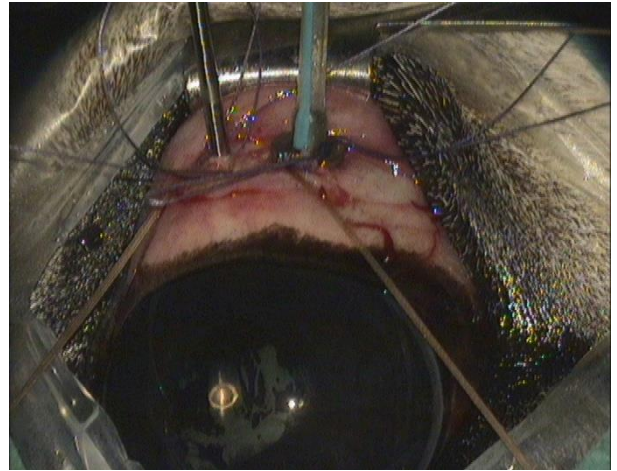
se existirem materiais inflamatórios. Ao longo de todo o procedimento, a pressão intraocular deve ser mantida a aproximadamente 40 mm Hg; o enrugamento ligeiro da retina, visto com o auxílio do oftalmoscópio, indica que a pressão intraocular pode estar muito baixa. No caso da pressão estar descontrolada a vitrectomia deve ser interrompida até que a pressão intraocular normal seja restabelecida. O procedimento cirúrgico é então retomado até que todo o material vítreo turvo seja removido. Sob irrigação contínua, a sonda de vitrectomia é removida e as esclerotomias são fechadas com um ou dois pontos isolados utilizando poliglactina 4-0. Seguidamente, a sonda de irrigação é removida; o vítreo periférico evita a saída de fluido através da esclerotomia, que é fechada com poliglactina 910 4-0. Posteriormente a conjuntiva é fechada com poliglactina 910 em sutura contínua e a cantotomia é suturada utilizando materiais não absorvíveis 4-0. No final da cirurgia, 20 mg de metilprednisolona podem ser injetados na conjuntiva bulbar inferior (Gilger & Deeg, 2011).

Todo este procedimento cirúrgico pode conhecer algumas alterações que dependem do estado clínico do cavalo e do material cirúrgico disponível. Para evitar hemorragia uveal, ambas as esclerotomias podem ser realizadas com um laser de CO₂ em modo contínuo a 50 W. As sondas para vitrectomia *standard* comercialmente disponíveis são, geralmente, demasiado curtas para utilização em cavalos. É aconselhado o uso de uma sonda oscilante de 55 mm com lâmina de corte tipo guilhotina é utilizada a 12 Hz, com aspiração de vácuo a 400 mm de Hg e uma taxa de fluxo de 15 mL/min. Uma frequência de oscilação elevada, sucção moderada e baixa taxa de fluxo devem ser utilizados para minimizar a tração do vítreo e diminuir a incidência dos descolamentos de retina iatrogénicos (Gilger & Deeg, 2011).

4.12.2.4 Complicações

As possíveis complicações intraoperatórias incluem trauma da lente, hemorragia do vítreo ou retina e descolamento de retina. O uso de um laser de CO₂ em vez de lâminas cirúrgicas nas

Figura 13 – A sonda de irrigação e a sonda de vitrectomia em posição, durante a aspiração de vítreo (imagem gentilmente cedida pela Clínica de Equinos, da Faculdade de Medicina Veterinária, Hannover).



esclerotomias reduz consideravelmente o risco de hemorragia. O contacto da sonda com a retina também deve ser evitado de forma a serem reduzidas as hemorragias imediatas e descolamentos subsequentes. As complicações pós-operatórias a curto prazo (até aos 3 meses) incluem a formação de cataratas e os descolamentos de retina. As complicações tardias (após os 3 meses) incluem a formação de cataratas, bem como a recidivas de uveíte (Spiess, 2010).

4.12.2.5 Prognóstico a longo prazo

De acordo com um estudo referido por Spiess (2010), 73% dos cavalos submetidos a vitrectomia não demonstraram recorrência da uveíte, enquanto 22% continuaram a sofrer de episódios recorrentes. Nos restantes animais apenas foi relatado mais um episódio de uveíte, facilmente controlado com terapêutica anti-inflamatória tópica.

Num estudo anterior com 43 olhos pós VPP, 42 permaneceram livres de uveíte recorrente durante um período de acompanhamento de 67 meses; 70% desses olhos mantiveram alguma visão. A complicação mais comum foi o desenvolvimento de cataratas em 19 de 43 olhos, seguida de *phthisis bulbi* em 6 olhos e descolamento de retina em 4 olhos (referido por Spiess, 2010).

Amostras vítreas de todos os cavalos intervencionados foram submetidas a TAM, e 85% foram positivas para *Leptospira interrogans*. Os serotipos mais comuns foram sucessivamente Grippotyphosa, Copenhageni, Bratislava, Canicola, Pyogenes e Pomona. Dos cavalos *Leptospira*-positivos, 82,5% não apresentaram novas recidivas após vitrectomia, enquanto 85,7% dos cavalos *Leptospira*-negativos voltaram a ter recidivas. Esta diferença, estatisticamente significativa, sugere que a vitrectomia representa uma abordagem terapêutica de sucesso para os cavalos que sofrem de URE associada a *Leptospira*, ao passo que os animais negativos para *Leptospira* spp não são candidatos adequados a este tipo de procedimento (Tömördy, Hässig & Spiess, 2010). Nestes últimos, a implantação de dispositivos de libertação prolongada de ciclosporina constitui uma melhor opção (Spiess, 2010).

A experiência clínica sugere que o humor aquoso e/ou amostras do vítreo de cavalos que sofrem de URE devem ser testadas para a *Leptospira* spp., e que a decisão de se realizar a vitrectomia deve ser baseada nos resultados laboratoriais. Num estudo de 38 olhos, a recorrência da uveíte ocorreu em 5 olhos, entre 10 dias e 3 anos após a cirurgia. Os restantes 33 olhos não mostraram recorrência durante um período de acompanhamento de 5 anos. A visão manteve-se estável em 28 olhos e melhorou num olho. Os restantes casos mostraram perda acentuada de visão devido ao desenvolvimento de cataratas, *phthisis bulbi*, ou por causa desconhecida. Dos 5 olhos com uveíte recorrente, 2 demonstraram perda acentuada da visão e 3 mantiveram a visão que tinham no pré-operatório (Frühaufl, Ohnesorge, Deegen & Boevé, 1998).

De forma a minimizar a ocorrência de descolamento da retina após a cirurgia, os cavalos com opacidade vítrea grave devem ser sujeitos a avaliação ultrassonográfica do fundo do olho e a eletrorretinografia para avaliar o estado funcional da retina (Gerhard et al., 1999). Em pacientes selecionados e após o consentimento dos proprietários, a VPP oferece uma alternativa muito promissora à terapêutica convencional. Com poucas exceções, os olhos não mostram recorrência da uveíte após VPP; no entanto, um número significativo de complicações pós-operatórias pode causar diminuição da capacidade visual ou cegueira. A complicação pós-operatória mais comum a longo prazo parece ser o desenvolvimento de cataratas. Não é claro se as opacidades preexistentes da lente progridem independentemente da VPP ou se a progressão é causada pelo procedimento cirúrgico. O trauma da cápsula posterior da lente durante a VPP leva, invariavelmente, a cataratas focais que progridem frequentemente. As hemorragias da retina e do vítreo são a complicação intraoperatória mais comum, embora a manutenção de uma PIO normal a alta, a manipulação cuidadosa da sonda de vitrectomia e evitar tocar na retina impedem geralmente estas complicações. Como foi referido anteriormente a hemorragia da coroide pode ser evitada com a utilização de um laser de CO₂, em vez de uma lâmina cirúrgica. Apesar destas complicações, a VPP parece ser um método promissor para o controlo a longo prazo da URE associada a leptospirose (Spiess, 2010).

III. Estudo

1. Objetivos

Este estudo pretende analisar uma população de cavalos com URE que foram submetidos a vitrectomia via *pars plana*, de forma a encontrar relações estatisticamente significativas entre diferentes parâmetros individuais (idade, grau de alterações oculares apresentado, raça, etc.) e a infecção ocular por *Leptospira*, à luz dos conhecimentos e hipóteses referidos na primeira parte desta dissertação.

2. Materiais e Métodos

2.1 Amostra

Este estudo foi efetuado a partir dos dados obtidos de cavalos sujeitos a vitrectomia na Clínica de Equinos, da Faculdade de Medicina Veterinária, Hannover. No período entre Janeiro de 2012 e Janeiro de 2013, foram efectuadas 32 vitrectomias em 30 equinos, sendo que dois cavalos foram operados a ambos os olhos, e que um outro animal já tinha sido intervencionado o olho contra lateral numa data anterior há considerada neste estudo.

Para serem considerados aptos para a cirurgia o diagnóstico de URE foi realizado, com base nos critérios descritos anteriormente no “Diagnóstico Diferencial e Métodos de Diagnóstico” da revisão bibliográfica, e a doença deverá apresentar-se na fase quiescente. A generalidade dos cavalos referenciados cumpriam os dois requisitos e no período em estudo apenas um animal foi enviado na fase aguda, tendo regressado um mês mais tarde para a cirurgia, após a resolução da recidiva.

A avaliação pré-cirúrgica incluiu um exame físico geral, um exame oftálmico e análises laboratoriais. O exame físico geral focou-se sobretudo na deteção de alterações patológicas que pudessem aumentar o risco anestésico ou comprometer o sucesso da cirurgia, como alterações cardiovasculares, respiratórias ou situações de inflamação/infeção. O exame oftálmico envolveu oftalmoscopia direta, biomicroscopia, o teste da fluoresceína, tonometria digital e, caso fosse impossível a visualização do fundo do olho devido a cataratas ou opacidades do corpo vítreo, foi realizada uma ultrasonografia transpalpebral, com uma sonda linear de 7,5 MHz. A acuidade visual foi avaliada através do reflexo de ameaça. As análises laboratoriais efetuadas incluíram contagens de células sanguíneas e análises dos gases sanguíneos.

O tratamento pré-operatório começa dois dias antes da cirurgia com a aplicação de uma pomada oftálmica com Dexametasona, Neomicina e Polimixina B (Isoptomax®) cada 3 horas, e um midriático (Atropine-POS® 1%) uma vez por dia. É ainda administrada flunixinina meglumina (Flumidol®) uma vez por dia, 1,1 mg/kg peso vivo, e no dia da cirurgia trimetropim-sulfamida (Borgal®) 15 mg/kg peso vivo, a cada 12 horas.

A cirurgia é efectuada com o paciente em decúbito lateral, e a anestesia é mantida com isoflurano. A preparação do campo cirúrgico compreende o corte das pestanas e a irrigação do ducto nasolacrimonial, seguida da lavagem das pálpebras e do saco conjuntival com uma solução desinfectante leve (OphtoLavas®, Chassot AG, Ravensburg) e uma solução salina contendo gentamicina (0.4 mg / mL). A cabeça do paciente é coberta com um pano de campo descartável em plástico estéril e é colocado um blefaróstato, para tornar a região dorsal do globo acessível. É preparado um flap conjuntival, com a utilização de um termocautério para a microcoagulação, e colocadas duas suturas de ancoragem para melhor rotação e fixação do globo ocular (Dexon®, 3/0 USP Braun-Dexon, Spangenberg). Nas áreas planeadas para a incisão são colocadas duas suturas intraesclerais (Vicryl®, 4/0 USP, Ethicon, Norderstedt) para assegurar o encerramento rápido após a remoção dos instrumentos. As esclerotomias são realizadas na *pars plana* ciliar, 11 a 13 mm distalmente ao limbo, na posição das 11 e 13 horas, com um bisturi de Gräfe e uma largura máxima de 2 mm. Seguidamente utiliza-se de um dilatador lacrimal duplo para ampliar as esclerotomias, e insere-se a sonda de irrigação, e após fixação desta, introduz-se a sonda de vitrectomia (Erbe Elektromedizin®, Tübingen) com o auxílio de oftalmoscopia binocular. A sonda de vitrectomia aspira o material vítreo ao mesmo tempo que se introduz solução salina (BSS plus®, Alcon, Freiburg, Alemanha), tratada com 0,2 mg/mL de gentamicina através da sonda de irrigação. A substituição foi realizada de acordo com o grau das alterações vítreas, com aproximadamente 300 a 450 ml de solução salina. Uma vez completada a substituição a sonda de vitrectomia é retirada e a incisão encerrada com as suturas previamente colocadas. Seguidamente retira-se a sonda de irrigação e encerra-se o local de incisão do mesmo modo. A conjuntiva é suturada com uma sutura contínua (Dexon 4/0 USP®, Braun-Dexon, Spangenberg), à qual se segue uma injeção subconjuntival de gentamicina (40 mg) e dexametasona (4 mg) na zona ventral desta. A terapêutica sistémica é continuada por 3 dias, e o tratamento tópico é mantido por 4 semanas. Dos 30 cavalos avaliados, 14 eram machos castrados (46,67%), 13 eram fêmeas (43,33%) e 3 eram garanhões (1,00%). As idades estavam compreendidas entre os 4 e os 22 anos, sendo a média 10,2 anos. A raça Hannoveriana foi a mais frequente, com 12 cavalos, seguida da raça Islandesa, com 3 cavalos. As raças Oldenburg e Knabstrupp, estavam representadas por 2 cavalos cada e as raças Meio Sangue Holandês, Shetland, Andaluz, Trakehner, Frísio e Westphalen tinham um representante cada. Os restantes 5 cavalos eram cruzados, dois cruzados de raças de meio sangue alemãs, dois de raças trotadoras, e um cruzado de raça árabe.

Relativamente à localização do olho submetido a cirurgia 14 cavalos foram operados ao olho direito (46,67%), 14 ao olho esquerdo (46,67%) e 2 foram intervencionados a ambos os olhos (6,67%). Num animal foram identificados e removidos nematodes oculares (*Thelazia lacrymalis*) durante o procedimento cirúrgico.

Foram enviadas amostras de vítreo recolhidas cirurgicamente, de todos os animais, para um laboratório acreditado (Gesellschaft Für Innovative Veterinärdiagnostik) de forma a ser feita a pesquisa de anticorpos *anti-Leptospira* por aglutinação microscópica, para 11 serovares (Australis, Bratislava, Autumalis, Canicola, Grippotyphosa, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Hardjo, Serjoe e Tarassovi). Consideraram-se positivos os títulos iguais ou superiores a 1:100. Foram também realizadas PCR de amplificação múltipla (*nested*) para o gene LipL32, apenas codificado por leptospiros patogénicas.

Os dados relativos ao exame pré-cirúrgico sobre as alterações oculares obtidos na avaliação pré-cirúrgica foram considerados para se testar a associação entre a positividade para *Leptospira* e as sequelas oculares. Estas alterações foram classificadas de acordo com 6 classes para cada compartimento ocular e os critérios usados estão descritos no anexo 1, tendo resultado de uma adaptação dos critérios utilizados por Borstel, Oey, Strutzberg-Minder, Boevé e Ohnesorge, 2010. De um modo semelhante aos exames radiográficos efectuados no exame de compra, o score é obtido pela classificação mais alta num dado parâmetro.

2.2 Análise Estatística

A análise estatística foi efetuada com recurso aos programas Microsoft Office Excel 2013® e IBM SPSS®. O teste do qui-quadrado foi utilizado para as variáveis nominais e para verificar a existência de associações entre estas. Tendo em conta o tamanho reduzido da amostra optou-se por utilizar o teste exacto de Fisher na maioria dos casos. O teste de Wilcoxon rank-sum foi utilizado para as variáveis ordinais.

3. Resultados

3.1 Positividade para *Leptospira*

Na análise com recurso à TAM, 16 dos 30 cavalos apresentavam anticorpos anti-*Leptospira* (53,33%), enquanto 14 mostraram resultados negativos (46,67%) (Gráfico 3). Dois dos cavalos seropositivos não apresentaram resultados positivos pela técnica de PCR. Foram detetados anticorpos maioritariamente contra o serovar Grippotyphosa, (13 em 16 animais positivos - 81,25%), sendo que em sete cavalos este era o único serovar positivo e dois animais eram positivos simultaneamente para o Serovar Pomona. Em 8 amostras foram detectados anticorpos para



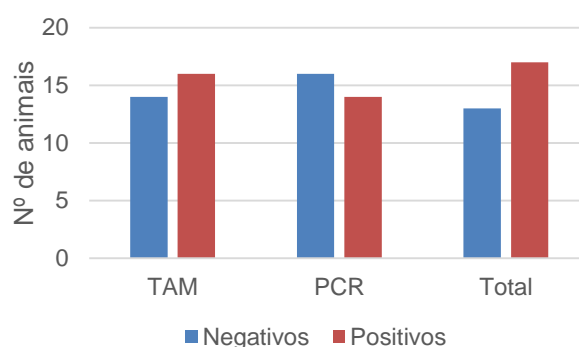
múltiplos serovares: em 6 cavalos com anticorpos contra o serovar Grippotyphosa, 7 contra o serovar Pomona, 4 contra o Autumalis, 3 contra o serovar Australis, 3 contra o serovar Canicola, 2 contra os serovares Bratislava, Copenhaghi e Icterohaemorrhagiae e 1 contra os serovares Hardjo e Serjoe.

Dos 30 cavalos analisados 3 apresentavam títulos para o serovar Australis (18,75%), 5 para o serovar Autumalis (31,25%), 3 para o serovar Bratislava (18,75%), 3 para o serovar Canicola (18,75%), 2 para o serovar Copenhaghi (12,5 %), 2 para o serovar Icterohaemorrhagiae (12,5 %), 7 para o serovar Pomona (43,75%), 1 para o serovar Hardjo (6,35%), para o serovar Serjoe (6,35%) e nenhum para o serovar Tarassovi (0%) (Gráfico 2).

A análise laboratorial por PCR identificou um total de 14 cavalos positivos para *Leptospira* (46,67%) e 16 cavalos negativos (53,33%) (Gráfico 3). Apenas um animal positivo por PCR não mostrou títulos positivos para nenhum dos serovares testados.

No total dos dois testes, 17 dos 30 cavalos (56,67%) apresentaram resultados positivos para *Leptospira* (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Positividade para *Leptospira*



3.2 Complicações intra e pós-cirúrgicas e período de internamento

Relativamente às complicações intra cirúrgicas foi observado apenas um caso de reação anafilática durante a indução da cirurgia. No que toca às complicações pós-cirúrgicas durante o período de internamento foram observadas em 4 animais, sendo que em três estiveram relacionadas diretamente com a intervenção efetuada (recidiva de URE, progressão de catarata e irritação pós-cirúrgica do olho intervencionado). Um animal apresentou tosse pós-cirúrgica em consequência da inflamação na traqueia provocada pela entubação.

O período médio de internamento foi de 10,27 dias, sendo o mais curto de 5 dias e o mais longo de 22 dias.

3.3 Correlação entre positividade para *Leptospira* e idade dos animais

A média de idade dos cavalos submetidos a vitrectomia que testaram positivo para *Leptospira* foi de 8,29 anos. Nos cavalos que testaram negativo para *Leptospira* a média foi de 12,69 anos. A análise estatística da amostra pelo teste de Wilcoxon Rank Sum mostrou que a diferença de idades entre os dois grupos de cavalos (serologicamente positivos e serologicamente negativos) é estatisticamente significativa ($p=0,017$).

3.4 Associação entre positividade para *Leptospira* e unilateralidade da doença

Por outro lado a associação entre a positividade para *Leptospira* e a unilateralidade da doença foi considerada estatisticamente significativa de acordo com o Teste de Fisher ($p=0,023$).

3.5 Associação entre positividade para *Leptospira* e o tipo de raça

Não foi encontrada uma associação estatística entre o tipo de raça (raças *warmblood* versus outras raças) e a positividade para *Leptospira* ($p=0,691$), de acordo com o Teste de Fisher. A percentagem de cavalos de raças não *warmblood* positivos para *Leptospira* foi ligeiramente superior à percentagem de cavalos de raças *warmblood* positivos (66,67% versus 52,38%).

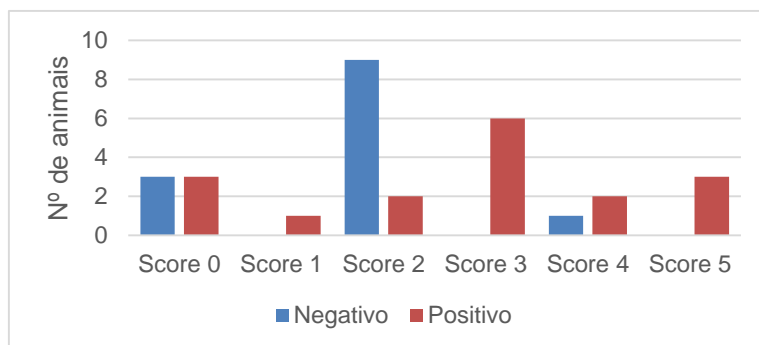
3.6 Associação entre positividade para *Leptospira* e o género dos animais

Também não se encontrou nenhuma associação estatisticamente significativa entre a positividade para a *Leptospira* e o género dos animais, de acordo com o teste de Fisher ($p=0,721$).

3.7 Sequelas pré-cirúrgicas

A análise das sequelas revelou que todos os cavalos com o score máximo (5) foram positivos para *Leptospira*. Com o score de 4 houve apenas um cavalo negativo e com score de 3 todos os cavalos voltaram a ser positivos para a bactéria (Gráfico 4). Estes resultados permitiram encontrar uma correlação positiva que foi confirmada pelo teste de Wilcoxon Rank Sum ($p=0,043$).

Gráfico 4 - Classificação dos scores e positividade para *Leptospira*



Em dois terços dos animais os scores mais elevados eram obtidos predominantemente devido a lesões presentes na porção posterior do olho (vítreo ou fundo) (Tabela 5). Também se verificou que todos os cavalos com scores elevados, e positivos para *Leptospira*, apresentavam títulos muito elevados (1:3200 ou superior) e/ou positividade para mais do que um serovar. Na amostra avaliada, 6 cavalos apresentavam score 0, um cavalo score 1, onze score 2, seis score 3, três score 4 e três score máximo de 5.

Tabela 5 - Classificação das lesões em função da estrutura afectada e do *score*

Nível de score	Estruturas				
	Íris	Lente	Vítreo	Fundo do Olho	Outras alterações
1	8	8	5	2	3
2	0	4	4	9	3
3	1	3	3	0	0
4	0	0	2	2	1
5	0	0	3	0	0

3.7 Análise económica

O custo médio por vitrectomia foi de 1634,65€, tendo sido mais reduzido de 921,18€ e o mais elevado de 1998,03€. O desvio padrão foi de 227,58 €.

4. Discussão dos resultados

4.1 Positividade para *Leptospira*

Os serovares identificados neste estudo e as suas respectivas incidências estão de acordo com estudos prévios efetuados na região (Brem et al, 1999; Hartskeerl *et al.*, 2004; Borstel et al., 2010; Tömördy, Hässig & Spiess, 2010). Este trabalho mostra existir uma correlação estatisticamente significativa entre a URE e a infeção por *Leptospira*. Contudo é importante ter em conta todas as outras reações imunológicas anteriormente descritas e o seu papel de relevo na etiologia multifatorial da URE.

4.2 Correlação entre positividade para *Leptospira* e idade dos animais

A forte correlação entre a positividade para *Leptospira* e a menor idade do animal indica que a *Leptospira* provoca doença ocular nos cavalos mais cedo, ou com maior gravidade, do que nas restantes causas de URE. Num estudo de Szemes e Gerhards (2000), foi descrita uma associação entre a idade e a URE, tendo-se concluído que um quarto a um terço dos cavalos com mais de 15 anos apresentam URE. Infelizmente, durante o nosso estudo não foi possível aceder aos dados de anamnese mais detalhados (como por exemplo, a data do primeiro episódio de uveíte ou do diagnóstico da doença), pelo que não é possível saber se a diferença de idades encontrada está mais relacionada com o desenvolvimento precoce da doença ou com uma maior agressividade desta. Um estudo revelou que os animais seropositivos para *Leptospira* tinham 4 vezes mais de probabilidade de ficarem cegos que os cavalos seronegativos, o que apoia a hipótese da diferença de gravidade da URE induzida por *Leptospira* face a outras causas (Dwyer et al., 1995).

4.3 Associação entre positividade para *Leptospira* e unilateralidade da doença

Embora se tenha verificado uma correlação positiva entre a positividade para *Leptospira* e a unilateralidade da doença, este facto pode ser de difícil interpretação. Ainda que a literatura sugira que a presença de leptospiros no olho desencadeia uma resposta imunomediada que mais tarde é reativada quando há reexposição ou diminuição do feedback negativo sobre os mediadores inflamatórios no olho, esta unilateralidade da doença parece apontar para a manutenção da inflamação apenas num olho, possivelmente devido à produção intracular de anticorpos.

4.4 Associação entre positividade para *Leptospira* e o tipo de raça

Apesar da percentagem de cavalos positivos para *Leptospira* pertencentes a raças não-*warmblood* ser maior do que a percentagem de cavalos positivos para *Leptospira* em raças *warmblood*, a diferença obtida não é estatisticamente significativa de acordo com o teste efectuado. Embora à primeira vista estes resultados não estejam de acordo com outros estudos, a falta de significância estatística pode dever-se ao reduzido tamanho da amostra e ao baixo número de animais não pertencentes a raças *warmblood* tratados. Também Faber *et al.* (2000) falhou em encontrar uma predisposição rácica, provalmente, pelo pequeno tamanho da amostra analisada. No entanto, Szemes e Gerhards (2000) mostraram uma predisposição das raças *warmblood* para a URE. Visto que estas raças são bastante populares no território onde o nosso estudo foi realizado, o facto de a amostra estar, à partida, enviesada poderá ter condicionado os resultados do teste. Adicionalmente, é também possível que no caso das raças *warmblood*, o seu valor como animal de desporto seja maior, sobretudo quando comparado com outras raças como a Islandesa, que são também bastante populares na Alemanha, o que poderá ter condicionado o acesso à vitrectomia e alterar ainda mais a amostra alvo de estudo.

4.5 Sequelas pré-cirúrgicas

O facto dos animais positivos para *Leptospira* apresentarem sequelas com *scores* mais elevados está de acordo com outros estudos efectuados (Borstel *et al.*, 2010). Este resultado indica infeção por *Leptospira* desencadeia uma forma de URE severa, que resulta numa maior gravidade das sequelas deixadas após cada episódio. O mesmo estudo refere ainda que os cavalos com *score* mais elevado (>3) são mais propensos a complicações graves, a longo prazo. O facto dos *scores* mais elevados serem relativos às estruturas posteriores do globo ocular está de acordo com Gilger e Deeg (2011), que afirmam que cavalos europeus e *warmbloods* são afetados sobretudo por uveíte posterior.

Alguns cavalos não apresentavam quaisquer sequelas de URE, apesar da realização da vitrectomia obrigar a um diagnóstico de URE, e portanto, estes cavalos terem sofrido pelo

menos uma recidiva da doença. Seria interessante comparar a rapidez e eficácia da terapêutica médica instituída nestes casos e a sua possível relação com a positividade para *Leptospira*, contudo os dados da história clínica não foram disponibilizados.

É duvidoso que sejam infeções mistas a causa da deteção de múltiplos serovares de *Leptospira*. Os anticorpos produzidos no início da reação imunológica são dirigidos contra os epitopos mais imunogénicos, que são comuns à maioria dos membros deste género e só após algum tempo são produzidos anticorpos característicos do serovar presente, ou seja, a maturação da resposta imunitária torna-a mais específica (Borstel *et al.*, 2010). Assim a deteção de múltiplos serovares nos olhos com alterações severas pode ser sinónimo de recidivas subagudas ou agudas recentes. Possivelmente pode acontecer neste estágio da doença uma apresentação constante de auto antigénios ou variações na regulação imunológica que se correlacionam com a gravidade das sequelas observadas.

Interessa referir que nos cavalos seronegativos em ambos os testes de *Leptospira* não foi possível concluir que a infeção tivesse sido causada por outra etiologia, visto ser possível que a infeção por *Leptospira* tenha ocorrido há meses/anos e que, portanto, já não ocorra a deteção dos fragmentos da bactéria ou dos anticorpos dirigidos a esta.

4.6 Complicações intra e pós-cirúrgicas e período de internamento

Neste estudo a única complicação intra-cirúrgica observada não esteve diretamente relacionada com o procedimento cirúrgico em causa. As complicações pós-cirúrgicas relacionadas com a URE foram resolvidas atempadamente com recurso à terapêutica apropriada. É interessante notar que no único caso de recidiva de URE no período pós-cirúrgico, foi uma égua de raça Knabstrupper que foi negativa para *Leptospira*. Embora estudos europeus recentes não mostrem qualquer associação estatística entre elevadas taxas de recorrência a longo prazo e a positividade para *Leptospira*, esta poderia ser uma explicação plausível para as diferenças observadas entre os EUA e a Europa, a nível de recorrência a longo prazo. Recentemente os scores mais elevados de sequelas foram associados positivamente a um maior número de complicações pós-cirúrgicas a longo prazo, incluindo cataractas maduras e descolamento da retina (Borstel *et al.*, 2010).

O período de internamento foi bastante variável, no entanto, este facto reflete mais as condicionantes económicas e pessoais dos donos do que uma diferença verdadeira na recuperação pós-cirúrgica entre os animais.

4.7 Análise económica

Relativamente aos custos da cirurgia, embora estes sejam avultados, as diferenças observadas entre animais são originadas sobretudo pelas diferenças no tempo de internamento, quer pré quer pós-cirúrgico.

4.8 Limitações do Estudo

Devido ao período de tempo curto deste estudo, não foi possível a recolha de dados sobre a incidência de recidivas de URE após a vitrectomia, a longo prazo. Esta é uma limitação importante dado que seria um parâmetro importante a analisar. Infelizmente, também não foi possível recolher informações sobre a pelagem de cada animal, o que impossibilitou a análise da correlação entre o padrão de cor apresentado e a positividade para *Leptospira*.

O facto do estágio que deu origem a esta dissertação ter sido realizado ao abrigo do programa ERASMUS, e portanto todos os dados nele contidos serem referentes à região onde foram recolhidos (Baixa Saxónia, Alemanha), é também uma limitação importante sobretudo no que visa à sua importância para o nosso país. A ausência de estudos reais sobre prevalência e importância de URE em Portugal impede a extrapolação da importância do reconhecimento e atuação precoce nesta doença para a clínica de equinos no nosso país. Embora os dados recolhidos por Rocha (2004) possam indicar que a prevalência da infeção por *Leptospira* em Portugal seja significativa, desconhece-se a sua relevância em termos económicos e desportivos.

Finalmente, o estudo apresenta algumas limitações no que respeita à recolha de dados. O facto de os dados relativos ao exame oftálmico pré-cirúrgico serem recolhidos por vários médicos veterinários tem inerente uma forte subjetividade, razão pela qual a utilização de uma tabela descritiva com o grau de alterações relativas a cada estrutura foi essencial para este estudo.

5. Conclusões

Embora seja unânime que a URE é uma patologia relevante na Alemanha, este estudo suporta esta perceção, e evidencia a importância da vitrectomia como abordagem terapêutica de sucesso no território, onde as lesões mais frequentes são no terço posterior do olho.

Este trabalho e a informação dele resultante contribuem para um aprofundamento do conhecimento sobre a URE e a sua relação com a leptospirose. Os resultados do estudo, no geral, apoiam as conclusões publicadas em trabalhos estando os dados obtidos em concordância com os conhecimentos atuais.

No caso específico da vitrectomia, enquanto terapêutica a considerar na URE, impõe-se como uma opção relativamente segura, embora dispendiosa à tradicional terapêutica farmacológica. Contudo, e uma vez que está comprovado que os seus resultados dependem das lesões pré-existentes, esta abordagem deve ser realizada o mais cedo possível após o diagnóstico de URE, antes de se instalarem sequelas oculares que comprometem a visão. A realização de uma parectomia vítrea antes da cirurgia é discutível, para clarificação da etiologia, uma vez que o custo elevado do procedimento é um impedimento considerável à sua realização.

A URE é uma síndrome complexa e a compreensão da sua patogénese e dos fatores de risco continuará a ser um desafio, à medida que investigação avança na busca de terapêuticas mais eficazes. A URE representa até à data o único modelo espontâneo para o estudo da uveíte autoimune humana pelo que a compreensão da uveíte recorrente em todas as espécies gira em torno da investigação de vários pontos-chave, nomeadamente: a composição genética que predispõe ao desenvolvimento da doença; se esta é autoimune, quais os autoantígenos que participam na iniciação e perpetuação da inflamação; que mecanismos imunitários iniciam a resposta imune e medeiam a destruição do tecido. Especificamente na espécie equina podemos ainda acrescentar: clarificação da etiologia e das possíveis interações entre as diferentes etiologias; estudo da forma insidiosa de URE para determinar se esta é uma doença diferente (etiologia e patogenia) relativamente à URE clássica.

São também necessários mais estudos para determinar a predisposição genética na URE. Não é provável que esta seja uma doença monogenética, mas investigação mais aprofundada é indispensável na identificação dos fatores de suscetibilidade para a URE. A elucidação deste assunto poderá também permitir a selecção de indivíduos e a reprodução controlada com vista à diminuição da prevalência da doença.

À medida que a compreensão dos mecanismos imunológicos da URE se torne mais abrangente, uma melhor eficiência das estratégias de imunossupressão acompanhada pelo desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas tornar-se-á possível, sendo o foco, a modulação da resposta autoimune e a protecção das estruturas intraoculares, sobretudo a retina. A cegueira ou a visão reduzida são consequência comuns em humanos ou em cavalos, e a uveíte causa grandes prejuízos económicos e sociais em todo o mundo. Novas terapêuticas imunossupressoras (como a rapamicina) podem oferecer esperança no tratamento médico, sendo necessário aperfeiçoar novos dispositivos de administração de medicamentos de libertação prolongada. São igualmente necessários mais estudos que abordem o papel da leptospirose e de outros microrganismos na iniciação e patogenia da URE, ao mesmo tempo que devem prosseguir os esforços na caracterização dos eventos imunológicos durante a inflamação e a recorrência. O desenvolvimento de novas terapêuticas para cavalos podem ser transportadas para o Homem, com uma consequente redução na incidência de cegueira em ambas as espécies.

Ainda que os dados referentes ao nosso país sejam poucos, pode afirmar-se que a prevalência da URE está muito provavelmente subestimada, existindo uma grande lacuna de estudos sobre esta doença e sobre a sua relação com a leptospirose. À medida que a etiologia desta doença no nosso território e a sua relação com a *Leptospira* forem sendo elucidadas é possível que a vitrectomia comece a ser realizada no tratamento da URE em Portugal.

IV Bibliografia

Amadi-Obi, A., Yu, C.R., Liu, X., Mahdi, R.M., Clarke, G.L., Nussenblatt, R.B., Gery, I., Lee, Y.S. & Egwuagu, C.E. (2007). TH17 cells contribute to uveitis and are expanded by IL-2 and inhibited by IL-27/STAT1. *Nature Medicine*. 13(6), 711-8.

Barwick, R.S., Mohammed, H.O., McDonough, P.L. & White, M.E. (1997). Risk factors associated with the likelihood of leptospiral seropositivity in horses in the state of New York. *American journal of veterinary research*. 58(10), 1097-103.

Båverud, V., Gunnarsson, A., Engvall, E.O., Franzén, P. & Egenvall, A. (2009). *Leptospira* seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 51, 15-25.

Blatti, S., Overesch, G., Gerber, V., Frey, J. & Hüssy, D. (2011). Seroprevalence of *Leptospira* spp. in clinically healthy horses in Switzerland [Abstract]. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde*. 153(10), 449-56.

Borstel, M., Oey, L., Strutzberg-Minder, K., Boevé, M.H. & Ohnesorge, B. (2010). Direkter und indirekter nachweis von leptospiren aus glaskörperproben von pferden mit ERU [Abstract]. *Pferdeheilkunde* 26 (2), 219-225.

Braga, J., Hamond, C., Martins, G. & Lilenbaum, W. (2010). Detection of anti-*Leptospira* antibodies in aqueous humor of horses with naturally occurring uveitis. *Online Journal of Veterinary Research*. 14 (2): 212-217

Braga, J., Hamond, C., Martins, G., Abreu, R.N. & Lilenbaum, W. (2011). Ophthalmic alterations in horses with leptospirosis by serovar *Icterohaemorrhagiae*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 31(2), 147-150.

Brandes, K., Wollanke, B., Niedermaier, G., Brem, S. & Gerhards, H. (2007). Recurrent Uveitis in Horses: Vitreal Examinations with Ultrastructural Detection of Leptospire. *Journal of Veterinary Medicine*. 54, 270–275.

Brem, S., Gerhards, H., Wollanke, B., Meyer, P. & Kopp, H. (1998). Demonstration of intraocular leptospira in 4 horses suffering from equine recurrent uveitis (ERU) [Abstract]. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 111(11-12), 415-417.

Brem, S., Gerhards, H., Wollanke, B., Meyer, P. & Kopp, H. (1999). 35 leptospira isolated from the vitreous body of 32 horses with recurrent uveitis (ERU) [Abstract]. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*. 112(10-11), 390-393.

Budras, K.D., Sack, W.O., Rock, S., Horowitz, A. & Berg, R. (2009) *Anatomy of the horse: an illustrated text*. (5th ed). (pp. 42-43). Germany. Schlütersche.

Caspi, R.R. (2010). A look at autoimmunity and inflammation in the eye. *Journal of Clinical Investigation*. 120(9), 3073–3083.

Davis, J.L., Salmon, J.H. & Papich, M.G. (2006). Pharmacokinetics and tissue distribution of doxycycline after oral administration of single and multiple doses in horses. *American Journal of Veterinary Research*. 67(2), 310-316.

Deeg, C.A., Kaspers, B., Gerhards, H., Thureau, S.R., Wollanke, B. & Wildner, G. (2001) Immune responses to retinal autoantigens and peptides in equine recurrent uveitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 42(2):393-8.

Deeg, C.A., Marti, E., Gaillard, C. & Kaspers, B. (2004). Equine recurrent uveitis is strongly associated with the MHC class I haplotype ELA-A9. *Equine Veterinary Journal*. 36(1), 73-75.

Deeg, C.A., Pompetzki, D., Raith, A.J., Hauck, S.M., Amann, B., Suppmann, S., Goebel, T.W., Olazabal, U., Gerhards, H., Reese, S., Stangassinger, M., Kaspers, B. & Ueffing, M. (2006) Identification and functional validation of novel autoantigens in equine uveitis. *Molecular & Cellular Proteomics*. 5(8), 1462-70.

Deeg, C.A., Raith, A.J., Amann, B., Crabb, J.W., Thureau, S.R., Hauck, S.M., Ueffing, M., Wildner, G. & Stangassinger, M. (2007). CRALBP is a Highly Prevalent Autoantigen for Human Autoimmune Uveitis *Clinical and Developmental Immunology*. Published online 2007 November 5.

Deeg CA. (2008). Ocular immunology in equine recurrent uveitis. *Veterinary Ophthalmology*. 11 (1), 61-5.

Deeg, C.A., Hauck, S.M., Amann, B., Pompetzki, D., Altmann, F., Raith, A., Schmalzl, T., Stangassinger, M. & Ueffing, M. (2008). Equine recurrent uveitis--a spontaneous horse model of uveitis. 40(3-4), 151-3.

Divers, T.J., Irby N.L., Mohammed, H.O. & Schhwark, W.S. (2008). Ocular penetration of intravenously administered enrofloxacin in the horse. *Equine Veterinary Journal*. 40 (2), 167-170.

Donahue, J.M., Smith, B.J., Redmon, K.J. & Donahue, J.K. (1991). Diagnosis and prevalence of leptospira infection in aborted and stillborn horses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 3(2), 148-151.

Donahue, J.M., Smith, B.J., Donahoe, J.K., Rigsby, C.L., Tramontin, R.R., Poonacha, K.B. & Wilson, M.A. (1992). Prevalence and serovars of leptospira involved in equine abortions in central Kentucky during the 1990 foaling season. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 4(3), 279-284.

Dwyer, A.E., Crockett, R.S. & Kalsow, C.M. (1995). Association of leptospiral seroreactivity and breed with uveitis and blindness in horses: 372 cases (1986-1993). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 207(10), 1327-131.

Dyce, K.M., Sack, W.O. & Wensing, C. J. G. (2010). *Textbook of veterinary anatomy*. (4th ed.). (pp.501-503; 526-529). Saunders Elsevier.

Ebani, V.V., Bertelloni, F., Pinzauti, P. & Cerri, D. (2012). Seroprevalence of *Leptospira* spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Italian horses. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 19(2), 237-40.

Ellis, W.A., O'Brien, J.J., Cassells, J.A. & Montgomery, J. (1983). Leptospiral infection in horses in Northern Ireland: serological and microbiological findings. *Equine Vet Journal*. 15(4), 317-320.

Evangelista, K.V. & Coburn, J. (2010). *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiology*. 5(9), 1413–1425.

Faber, N.A., Crawford M., LeFebvre R.B., Buyukmihci N.C., Madigan J.E. & Willits N.E. (2000). Detection of *Leptospira* spp. in the aqueous humor of horses with naturally acquired recurrent uveitis. *Journal of Clinical Microbiology*. 38(7), 2731–2733.

Frühauf, B., Ohnesorge, B., Deegen, E. & Boevé, M. (1998). Surgical management of equine recurrent uveitis with single port pars plana vitrectomy. *Veterinary Ophthalmology*. 1(2-3):137-151.

Gerhards, H., Wollanke, B. & Brem, S. (1999). Vitrectomy as a Diagnostic and Therapeutic Approach for Equine Recurrent Uveitis (ERU). [versão electronica]. In *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP 1999*. 45 pp. 89-93. Acedido em Março 21, 2013, em <http://www.ivis.org/proceedings/aaep/1999/89.pdf>

Giles, R.C., Donahue, J.M., Hong, C.B., Tuttle, P.A., Petrites-Murphy, M.B., Poonacha, K.B., Roberts, A.W., Tramontin, R.R., Smith, B. & Swerczek, T.W. (1993). Causes of abortion, stillbirth, and perinatal death in horses: 3,527 cases (1986-1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 203(8), 1170-1175.

Gilger, B. C., Wilkie, D. A., Davidson, M. G., & Allen, J. B. (2001). Use of an intravitreal sustained-release cyclosporine delivery device for treatment of equine recurrent uveitis. *American journal of veterinary research*, 62(12), 1892-1896.

Gilger, B. C., Salmon, J. H., Wilkie, D. A., Cruysberg, L. P., Kim, J., Hayat, M., Kim, H., Kim, S., Yuan, P., Lee, S.S., Harrington, S.M., Murray, P.R., Edelhauser, H.F., Csaky, K.G. & Robinson, M. R. (2006). A novel bioerodible deep scleral lamellar cyclosporine implant for uveitis. *Investigative ophthalmology & visual science*, 47(6), 2596-2605.

Gilger, B.C., Salmon, J.H., Yi, N.Y., Barden, C.A., Chandler, H.L., Wendt, J.A. & Colitz, C.M. (2008). Role of bacteria in the pathogenesis of recurrent uveitis in horses from the southeastern United States. *American Journal of Veterinary Research*. 69(10), 1329-35.

Gilger, B. C., Wilkie, D. A., Clode, A. B., McMullen, R. J., Utter, M. E., Komaromy, A. M., Brooks, D.E. & Salmon, J. H. (2010). Long-term outcome after implantation of a suprachoroidal cyclosporine drug delivery device in horses with recurrent uveitis. *Veterinary ophthalmology*, 13(5), 294-300.

Gilger C. B. & Deeg C. (2011). *Equine Recurrent Uveitis*. In C. B. Gilger, *Equine Ophthalmology* (2nd edition). Saunders Elsevier.

Gilmour, M.A., Clarke, C.R., Macallister, C.G., Dedeo, J.M., Caudell, D.L., Morton, R.J. & Pugh, M. (2005). Ocular penetration of oral doxycycline in the horse. *Veterinary Ophthalmology*. 8 (5), 331-335.

Harrison, N. A., & Fitzgerald, W. R. (1988). Leptospirosis--can it be a sexually transmitted disease?. *Postgraduate Medical Journal*, 64(748), 163-164.

Hartskeerl, R.A., Goris, M.G., Brem, S., Meyer, P., Kopp, H., Gerhards, H. & Wollanke, B. (2004). Classification of *leptospira* from the eyes of horses suffering from recurrent uveitis.

Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health. 51(3):110-115.

Hashimoto, V.Y., Gonçalves, D.D., Silva, F.G., Oliveira, R.C., Alves, L.A., Reichmann, P., Muller, E.E. & Freitas, J.C. (2007). Occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in horses of the urban area of Londrina, Paraná, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 49(5), 327-30.

Hines, M.T. (2007). Leptospirosis. In Sellon, D.C., Long, M. *Equine infectious diseases*, (1st ed.). (pp. 301-309) Saunders Elsevier.

Hollingsworth, S. (2009). The equine eye. *The Horse Report*, 27, 1-11.

Jorge, R.S., Ferreira, F., Ferreira Neto, J.S., Vasconcellos, S. A., Lima, E.S., Morais, Z.M. & Souza, G.O. (2011). Exposure of free-ranging wild carnivores, horses and domestic dogs to *Leptospira* spp in the northern Pantanal, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 106(4), 441-4.

Kalsow, C.M. & Wacker, W.B. (1978). Pineal gland involvement in retina-induced experimental allergic uveitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 17(8), 774-83.

Kalsow, C.M., Dwyer, A.E., Smith, A.W. & Nifong, T.P. (1993). Pinealitis accompanying equine recurrent uveitis. *British Journal of Ophthalmology*. 77(1), 46-8.

Kalsow, C.M., Dubielzig, R.R. & Dwyer, A.E. (1999). Immunopathology of pineal glands from horses with uveitis, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 40, 1611–1615,

Kitson-Piggot, A.W. & Prescott, J.F. (1987). Leptospirosis in horses in Ontario. *Canadian journal of veterinary research*. 51(4), 448-451.

Kulbrock, M., Lehner, S., Metzger, J., Ohnesorge, B., & Distl, O. (2013). A Genome-Wide Association Study Identifies Risk Loci to Equine Recurrent Uveitis in German Warmblood Horses. *Acedido em Set. 16, 2013, disponível em: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0071619>*

Lees, V.W. & Gale, S.P. (1994). Titers to *Leptospira* species in horses in Alberta. *Canadian Veterinary Journal*. 35(10), 636–640.

Levett, P.N. (2001). Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 14 (2), 296-326.

Lucchesi, P.M. & Parma, A.E. (1999). A DNA fragment of *Leptospira interrogans* encodes a protein which shares epitopes with equine cornea. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 71(3-4), 173-179.

Lucchesi, P.M., Parma, A.E. & Arroyo, G.H. (2002). Serovar distribution of a DNA sequence involved in the antigenic relationship between *Leptospira* and equine cornea. *BMC Microbiology*. *Acedido em Jan. 21, 2013, disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/2/3>*

Murray, G. L., Lo, M., Bulach, D. M., Srikram, A., Seemann, T., Quinsey, N. Sermswan, R.W., Allen, A. & Adler, B. (2012). Evaluation of 238 antigens of *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo for protection against kidney colonisation. *Vaccine*, 31, 495–499.

Park, Y.G., Gordon, J.C., Bech-Nielsen, S. & Slemons, R.D. (1992). Factors for seropositivity to leptospirosis in horses. *Preventive Veterinary Medicine*. 13(2), 121–127.

Parma, A.E., Santisteban, C.G., Villalba, J.S. & Bowden, R.A. (1985). Experimental demonstration of an antigenic relationship between *Leptospira* and equine cornea. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 10 (2-3), 215-224.

Parma, A.E., Fernandez, A.S., Santisteban, C.G., Bowden, R.A. & Cerone, S.I. (1987). Tears and aqueous humor from horses inoculated with *Leptospira* contain antibodies which bind to cornea. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 14, 181-185.

Pearce, J.W., Galle, L.E., Kleiboeker, S.B., Turk, J.R., Schommer, S.K., Dubielzig, R.R., Mitchell, W.J., Moore, C.P. & Giuliano, E.A. (2007). Detection of *Leptospira interrogans* DNA and antigen in fixed equine eyes affected with end-stage equine recurrent uveitis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 19(6), 686-90.

Regan, D.P., Aarnio, M.C., Davis, W.S., Carmichael, K.P., Vandenplas, M.L., Lauderdale, J.D. & Moore, P.A. (2012). Characterization of cytokines associated with Th17 cells in the eyes of horses with recurrent uveitis. *Veterinary Ophthalmology*. 15 (3), 145-52.

Rocha, M.T.R.B. (2004). Equine leptospirosis in Portugal; serological, immunological and microbiological studies. Dissertação para obtenção do grau de Doutor em Ciências Veterinárias. Universidade de Trás-Os-Montes e Alto Douro.

Rohrbach, B.W., Ward, D.A., Hendrix, D.V., Cawrse-Foss, M. & Moyers, T.D. (2005). Effect of vaccination against leptospirosis on the frequency, days to recurrence and progression of disease in horses with equine recurrent uveitis. *Veterinary Ophthalmology*. 8(3), 171-179.

Sillerud, C. L., Bey, R. F., Ball, M., & Bistner, S. I. (1987). Serologic correlation of suspected *Leptospira interrogans* serovar pomona-induced uveitis in a group of horses. [Abstract]. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 191(12), 1576-1578.

Silva, E. F., Medeiros, M. A., McBride, A. J., Matsunaga, J., Esteves, G. S., Ramos, J. G., Santos, C.S., Croda, J., Homma, A., Dellagostin, O.A., Haake, D.A., Reis, M.G. & Ko, A. I. (2007). The terminal portion of leptospiral immunoglobulin-like protein LigA confers protective immunity against lethal infection in the hamster model of leptospirosis. *Vaccine*, 25 (33), 6277-6286.

Spiess, B.M. (2010). Equine recurrent uveitis: the European viewpoint. *Equine Veterinary Journal*. (37), 50-6.

Szemes, P.A. & Gerhards, H. (2000) Untersuchungen zur Prävalenz der equine rezidivierenden Uveitis im Grossraum Köln-Bonn [Abstract]. *Der praktische Tierarzt* 81, 408-420.

Tömördy, E.; Hässig, M. & Spiess, B. M. (2010). The outcome of pars plana vitrectomy in horses with equine recurrent uveitis with regard to the presence or absence of intravitreal

antibodies against various serovars of *Leptospira interrogans*. *Pferdeheilkunde*. 26(2), 251-254.

Tóth, J., Hollerrieder, J. & Huskamp, B. (2006). Spezielle Indikationen zur Vitrektomie beim Pferd. *Pferdeheilkunde*. 22(3), 296-300.

van den Ingh, T.S., Hartman, E.G. & Bercovich, Z. (1989). Clinical *Leptospira interrogans* serogroup Australis serovar lora infection in a stud farm in The Netherlands. *Vet Q*. 11(3), 175-182.

Verma, A., Artiushin, S., Matsunaga, J., Haake, D.A. & Timoney, J.F. (2005). LruA and LruB, novel lipoproteins of pathogenic *Leptospira interrogans* associated with equine recurrent uveitis. *Infection and Immunity*. 73(11), 7259-66.

Verma, A., Rathinam, S.R., Priya, C.G., Muthukkaruppan, V.R., Stevenson, B. & Timoney, J.F. (2008). LruA and LruB Antibodies in Sera of Humans with Leptospiral Uveitis. *Clinical and Vaccine Immunology*. 15(6), 1019–1023.

Verma, A., Kumar, P., Babb, K., Timoney, J.F. & Stevenson, B. (2010). Cross-reactivity of antibodies against leptospiral recurrent uveitis-associated proteins A and B (LruA and LruB) with eye proteins. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. 4(8), 778- 788.

Verma, A., Matsunaga, J., Artiushin, S., Pinne, M., Houwers, D.J., Haake, D.A., Stevenson, B. & Timoney, J.F. (2012). Antibodies to a novel leptospiral protein, LruC, in the eye fluids and sera of horses with *Leptospira*-associated uveitis. *Clinical and Vaccine Immunology*. 19(3), 452-6.

Verma, A., Stevenson, B. & Adler, B. (2013). Leptospirosis in horses. *Veterinary microbiology*. Acedido em Julho 2, 2013, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.04.012>

Wada, S., Yoshinari, M., Katayama, Y., Anzai, T., Wada, R. & Akuzawa, M. (2003). Nonulcerative keratouveitis as a manifestation of Leptospiral infection in a horse. *Veterinary Ophthalmology*. 6(3), 191-195.

Wollanke, B., Gerhards, H., Brem, S., Kopp, H. & Meyer, P. (1998). Intraocular and serum antibody titers to *Leptospira* in 150 horses with equine recurrent uveitis (ERU) subjected to vitrectomy. [Abstract]. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, 111(4), 134.

Wollanke, B., Rohrbach, B.W. & Gerhards, H. (2001). Serum and vitreous humor antibody titers in and isolation of *Leptospira interrogans* from horses with recurrent uveitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 219(6), 795-800.

Zipplies, J.K., Hauck, S.M., Schoeffmann, S., Amann, B., Stangassinger, M., Ueffing, M. & Deeg, C.A. (2009). Serum PEDF levels are decreased in a spontaneous animal model for human autoimmune uveitis. *Journal of Proteome Research*. 8(2), 992-998.

V Anexos

Anexo 1 – Tabela de classificação das alterações oculares

	Íris	Lente	Vítreo	Fundo	Outras alterações
0	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
1	Despigmentação leve Sinéquia focal de pequenas dimensões	Catarata nuclear capsular Depósito de pigmento focal	Sinérese vítrea ligeira e pequenas inclusões filamentosas	Uma única lesão coriorretiniana (uma <i>bullet hole lesion</i>)	Redução leve do do tamanho do globo ocular Redução leve da câmara anterior
2	Despigmentação leve Sinéquia focal de grandes dimensões	Catarata multifocal capsular e subcapsular ou cortical vacuolar Depósitos multifocais de pigmento	Sinérese vítrea ligeira e inclusões filamentosas em cortina	Lesões coriorretinianas focais (lesão <i>bullet hole</i>) Coriorretinite peripapilar (lesão <i>butterfly</i>) de pequena dimensão	Redução moderada do tamanho do globo ocular Redução moderada da câmara anterior Opacidade focal da córnea
3	Despigmentação moderada Várias sinéquias focais	Catarata local capsular ou subcapsular ou em rede Catarata imatura cortical ou nuclear	Sinérese vítrea moderada e inclusões filamentosas moderadas Opacificação ligeira e amarelada	Múltiplas lesões coriorretinianas focal (lesão <i>bullet hole</i>) Coriorretinite peripapilar (lesão <i>butterfly</i>) de grande dimensão	Aumento moderado do tamanho do globo ocular Aumento moderado da câmara anterior Opacidade generalizada da córnea Aumento moderado da PIO
4	Despigmentação moderada Atrofia Sinéquia circular	Catarata difusa imatura capsular ou subcapsular, cortical ou nuclear Subluxação da lente	Sinérese vítrea severa e inclusões filamentosas moderadas Opacificação moderada e amarelada	Coriorretinite generalizada Degeneração da retina Dobras/pregas retinianas Descolamento da retina parcial	Aumento moderado do tamanho do globo ocular Aumento moderado da câmara anterior Opacidade generalizada da córnea Estrias de Haab Aumento moderado da PIO
5	Despigmentação severa <i>Seclusio Pupillae</i>	Catarata madura ou hipermadura Deslocamento completo da lente	Sinérese vítrea severa e inclusões filamentosas densas Opacificação severa e amarelada	Descolamento da retina total	Aumento severo do tamanho do globo ocular Aumento severo da câmara anterior Opacidade generalizada da córnea Estrias de Haab Aumento severo da PIO / <i>phthisis bulbi</i>